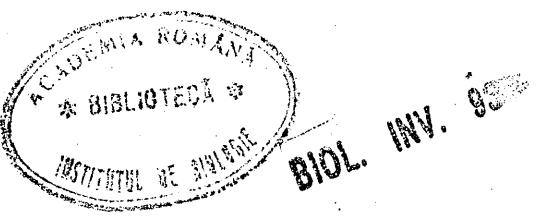


COMITETUL DE REDACTIE

PJ/695



Director:

Academician MIHAI BĂCESCU

Redactor șef:

PETRE MIHAI BĂNĂRESCU, membru corespondent

Membri:

Academician NICOLAE BOTNARIUC; academician OLGA NECRASOV; prof. dr. GRIGORE STRUNGARU; prof. dr. IRINA TEODORESCU; dr. NICOLAE TOMESCU; prof. dr. RADU MEŞTER – secretar de redacție

Revista apare de două ori pe an

Pentru a vă asigura colecția completă și primirea la timp a revistei, reînnoiți abonamentul dv.

În țară, revista se poate procura prin poștă, pe bază de abonament la:
RODIPET S.A., Piața Presei Libere nr. 1, sect. 1, P.O. Box 33-57,
Fax 401-222 6407, Tel. 401-618 5103; 401-222
4126, București, România.

ORION PRESS INTERNATIONAL S.R.L., Sos. Olteniei 35-37,
sect.4, P.O. Box 61-170, Fax 401-312 2425; 401-
634 7145, Tel. 401-634 6345 București, România.

AMCO PRESS S.R.L., Bd. Nicolae Grigorescu nr. 29A, ap. 66, sect.3,
P. O. Box 57-88, Fax 401-312 5109, Tel. 401-643
9390; 401-312 5109, București, România.

Manuscrisele, cărțile, revistele pentru schimb, precum și orice corespondență se vor trimite pe adresa Comitetului de redacție al revistei: Institutul de Biologie, Splaiul Independenței nr. 296, București.

La revue "Studii și cercetări de biologie animală" paraît deux fois par an. Toute commande de l'étranger pour les travaux parus aux éditions de l'Académie Roumaine sera adressée à:

RODIPET S.A., Piața Presei Libere nr. 1, sect. 1, P.O. Box 33-57,
Fax 401-222 6407, Tel. 401 618 5103; 401-222
4126, București, România.

ORION PRESS INTERNATIONAL S.R.L., Sos. Olteniei 35-37, sect.
4, P.O. Box 61-170, Fax 401-312 2425; 401-634
7145, Tel. 401-634 6345 București, România.

EDITURA ACADEMIEI ROMÂNE
Calea 13 Septembrie nr. 13
76117 București
telefon 410 38 46/2123, 2107, 2119

Studii și cercetări de BIOLOGIE

SERIA BIOLOGIE ANIMALĂ

25091

TOMUL 48, NR. 1

ianuarie – iunie 1996

SUMAR

A.Z. LEHRER, Asupra speciei <i>Xanthopterisca condona</i> (CURRAN, 1934) și stabilirea unei noi specii afrotropicale (DIPTERA, SARCOPHAGIDAE)	3
ANA GEORGESCU, IOANA TRANDABURU, T. TRANDABURU, Citologia pancreasului endocrin la pasărea <i>Chloris chloris</i> L. (fam. Fringillidae) cu referiri speciale la efectele administrației de glucoză	9
D. GEORGESCU, FLORICA ENĂCHESCU, S. NICOLAU, MARIA ȘERBĂNESCU, MARIA PLEȘA, Histicitoza "X" la copil	17
ANCA OANCEA, OTILIA ZĂRNESCU, DĂNUȚ TURCU, Evidențierea prin microscopie optică și electronică a glicozaminoglicanilor din tractul reproducător femel de suine	23
OTILIA ZĂRNESCU, CĂLIN TESIO, Efectul mercurului asupra hemocitelor de <i>Anodonta piscinalis</i> (NILSSON)	31
VICTORIA-DOINA SANDU, CRISTINA PAŞCA, ADINA COSTEA, KİŞ ERIKA, Modificări histologice și histo chimice induse de metilcloroform la nivelul ficatului de şobolan. Efectele hepatoprotectoare ale Folcisteinei-U	39
M. DECIU, Studiul efectului Hertwig produs prin iradierea cu ultraviolete a spermatozoizilor de crap (<i>Cyprinus carpio</i> L.)	45
DINA COPREAN, ARIANA PROTASE, MIHAI POPESCU, Distrofia musculară progresivă Duchenne. Aspecte genetice	53
IOAN ROȘCA, CONSTANTIN POPOV, Cercetări privind populațiile de ploșniță cerealelor (<i>Eurygaster integriceps</i> Put.) din România și Iran	63
D. RADU, Erori privind răspândirea unor specii de păsări în România (VII)	69

ASUPRA SPECIEI *XANTHOPTERISCA CONDONA*
(CURRAN, 1934) ȘI STABILIREA UNEI NOI SPECII
AFROTROPICALE (DIPTERA, SARCOPHAGIDAE)

ANDY Z. LEHRER

The author presents the taxonomical situation of the species *Sarcophaga* (*Xantopterisca condona* sensu Zumpt 1972). The true *Xanthopterisca condona* (Curran, 1934) and the new species *Xanthopterisca gadiriana* nom. nov. (pro *Sarcophaga condona* Zumpt - misidentification) are described and compared especially on the basis of male genitalia.

În general, cunoașterea Sarcophagidelor etiopiene se găsește într-o fază nesatisfăcătoare din punct de vedere faunistic și, mai ales, taxonomic. Ea este asemănătoare fazelor inițiale ale cunoașterii Sarcophagidelor palearctice, când dipterologii au sesizat diferențele de „contur” ale genitaliilor masculine, dar nu au putut înțelege valoarea taxonomică a tipurilor falozomice de structură pentru identificarea și delimitarea corectă a speciilor. De aceea, unii colecționari ai acestei familii nu au considerat necesar să aprofundeze tehniciile de punere în evidență a structurilor falozomice și de a le reprezenta în mod științific, rămânând doar la selecția „clasică” a caracterelor externe foarte variabile a taxonilor. În cazul cel mai bun, schițele presupusei genitalii a speciei respective a constituit pentru ei o simplă ilustrare neinteligibilă și, mai târziu, aproape imposibil de a fi repartizată adevărătei speciei.

Evident că, în același timp cu folosirea tehniciilor histologice adecvate și cu desenele conforme și executate la camera clară, investigațiile taxonomice s-au complicat din ce în ce mai mult. Toate aceste fapte au contribuit la îndepărțarea confuziilor care abundă, mai ales, în subfamilia Sarcophaginae. Nu numai desenele lui Engel (1924), Curran (1934), Rickenbach (1964, 1976) și Reed (1973, 1974) ridică probleme foarte grele prin amplitudinea aproximăției și interpretării lor, de mare versatilitate de la o lucrare la alta. Comparațiile lor având legătură fie cu desenele lui Curran, fie cu cele ale lui Rohdendorf sunt subiective și, de cele mai multe ori, eronate.

Ceea ce este mai important, ca un reflex al tuturor acestor inadvertențe, este imensa eterogenitate a ceea ce reprezintă sistemul confuz al lui Zumpt (1972) pentru Sarcophagidae, adoptat în mare parte de J. D. Dear (1980) în recentul său catalog. Aproape toate grupele și subgrupele sale artificiale nu au nici o valoare sistematică, pentru că ele sunt politipice, dacă se face analiza armăturilor genitale masculine ale speciilor lor componente.

Genul *Xanthopterisca* Rohdendorf 1963, deși foarte bine delimitat pe baza structurii sale falozomice, constituie un asemenea exemplu. Asupra sa Rohdendorf (1963:13) spune că specia-tip a sa este *X. brunnipalpis* (Macquart, 1850) și că în compoziția sa specifică ar intra numai ea și *X. condona* (Curran, 1934).

Zumpt (1972:84) consideră că *Sarcophaga brunnipalpis* Rohdendorf (nec Macquart) este sinonimă cu *Sarcophaga elegantipes* Villeneuve 1921, deoarece *Agria brunnipalpis* Macq. aparține genului *Wohlfahrtia* Brauer & Bergenstamm 1889. După opinioile sale, în compoziția "subgenului *Xanthopterisca*" se găsesc: *Sarcophaga condona* (Curran, 1934), *S. elegantipes* Villeneuve 1921 și *S. regularis* Wiedemann 1830.

Acestea au fost înscrise cu același statut de către J. P. Dear (1980:816) în catalogul său al Sarcophagidelor afrotropicale.

Având posibilitatea de a studia colecțiile de Sarcophaginae ale Natal Museum din Pietermaritzburg (Africa de Sud), am descoperit 3 ♂♂ aparținând adevărătei *Xanthopterisca condona* (Curran, 1934) și, astfel, pe baza structurilor genitaliei lor să elucidăm confuzia determinată de Zumpt, care a confundat o specie afină diferită de aceea menționată mai sus și pe care noi am redenumit-o *Xanthopterisca gadiriana* nom. nov.

DESCRIEREA SPECIILOR

1. *Xanthopterisca condona* (Curran, 1934)

= *Agria* ? *condona* Curran 1934, Amer. Mus. Novit., 727:5, fig. 3.
MASCUL

Capul. Negru, cu tomentum argintiu, parafacialiile largi și epistomul proeminent. Fruntea, văzută de sus și la nivelul cel mai îngust, măsoară 2/3 din lățimea unui ochi. Banda frontală neagră este de 2 ori mai lată decât o parafacialie. Antenele negre cu bordura anteroară a articolelor bazale cafenie roșcată; cel de-al treilea articol este de 1,5 ori mai lung decât al doilea. Arista este de un negru cafeniu, cu peri de dimensiuni mijlocii pe ambele părți. Vibrissarium cafeniu până la negru. Trompa și palpii sunt negri cu tentă cafenie-roșcată; ultimii sunt lungi și mai mult sau mai puțin subțiri. Peristomul măsoară 1/3 din diametrul ocular mare.

Chetotaxia capului. Macrocheții verticali interni sunt puternici, lungi și retroclini; macrocheții verticali externi foarte dezvoltăți; ocelarii proclini și preverticalii retroclini bine dezvoltăți și de dimensiuni aproape egale; macrocheții frontalii sunt în număr de 10-11 perechi; 3-4 macrocheți parafaciali destul de scurți și distanțați între ei; vibrissele mici urcă puțin pe bordurile faciale; există un postocelar și un postvertical pe fiecare parte a occiputului; microcheții occipitali sunt dispuși pe două rânduri. Peristomul este acoperit cu peri negri; partea posterioară a capului are peri albi.

Toracele. Negru, cu toment argintiu, trei benzi medio-dorsale longitudinale negre, late și două benzi laterale înguste. Propleurele glabre; prosternum păros. Stigmele cafenii negricioase. Picioarele negre; femurile mediane sunt lipsite de un ctenidium tipic.

Chetotaxia toracelui. ac = 0 + 1, dc = 0 + 2 (în regiunea prescutelară), ia = 0 + 1-2, prs = 1, sa = 3, h = 3, ph = 1-2, n = 4, pa = 2, sc = 3 + 0 (d lipsesc), pp = 1 (plus câțiva peri), pst = 1, st = 1:1:1.

Aripile. Transparente și cu nervurile galbene. Epoletul este negru; basicosta și costagium galbene. Nervura r_1 este glabră. Nervura r_{4+5} este ciliată până la mijlocul distanței dintre originea sa și r_m . Cubitus este curbat în unghi drept și prelungit cu un pliu. Spinul costal lipsește. Solzii galbeni; balansierele de asemenea galbene.

Chetotaxia tibiilor. Tibiile anterioare au 3 ad proximali și 1 pv. Tibiile mediane sunt prevăzute cu 2 ad, 1 av, 2-3 pd și 1 pv. Tibiile posterioare au 2 ad mari, 1 av, 2-3 pd și o pilozitate lungă pe părțile antero- și postero-ventrale.

Abdomenul. Negru, cu toment argintiu și desene în săh. Formula chetotaxică: 0 + 0 (sau cu 2 peri culcați și fini) + 2 + serie. Abdomenul prezintă o bandă neagră lată pe tergitele I-IV și pete negre de formă mai mult sau mai puțin circulară; pe partea ventrală, tergitele III-V au pete circulare negre antero-laterale distincte. Tergitul genital negru lucios, cu tentă cafenie mai ales la baza sa și prevăzut cu câțiva peri marginali lungi. Tergitul anal portocaliu.

Armătura genitală: fig. 1. Sternitul V (A) este bine dezvoltat și are peri; partea sa bazală scurtă și îngustă; lamele laterale sunt mai mult sau mai puțin triunghiulare, relativ scurte și late la baza lor. Cercii (B) scurți în jumătatea distală, de formă mai mult sau mai puțin triunghiulară, ușor curbați ventral și au un vârf scurt și puțin curbat; paralobii destul de lați, dar ușor contorsionați la capătul lor proximal și la vârful inferior. Distifalusul (C) dezvoltat. Partea bazală a parafalusului este relativ scurtă și mai mult sau mai puțin cvadrangulară. Partea apicală a parafalusului este formată dintr-un rudiment median scurt și două apofize laterale foarte lungi, orientate oblic în jos, late și ascuțite la vârf. Stili sunt lungi, destul de lați, curbați în jos, depășind mult marginea inferioară a apofizelor laterale și au numeroși dinți foarte distincți. Apofiza hipofalică este subțire, foarte lungă, ușor curbată și depășește mult marginea inferioară a lobilor membranali. Membrana scurtă și transparentă. Lobii membranali foarte dezvoltăți, sclerificați și pigmentați, au formă unei caschete; lobii interni sunt mai scurți, foarte lați și cu marginea superioară larg curbată; cei externi sunt lungi, lați, orientați ventral și plăti. Pregonitele (D) sunt mult mai lungi decât postgonitele (E), cu vârful puțin curbat și fără macrocheți; ultimele au forma de croșet, dar mai curbat și cu 2 macrocheți supraterminali.

Lungimea corpului: 10,5-11 mm.

FEMELA. Necunoscută.

Materialul studiat. 2 ♂♂ cu etichetele: SOUTH AFRICA, Cape Mountain Zebra Natl Park, 1400 m, March 12.1972, ME & BJ Irwin, 3225Ab; 1 ♂ cu eticheta: TRANSKEI #1, 2 Km N of Kei River, 32°29' S:28°00'E, 300 m, 19.XI.1990, Whittington & Londt, Hillside *Acacia/grass*.

Observații. După investigațiile noastre, bazate pe compararea desenelor armăturilor genitale prezentate de Zumpt (1. cit., fig. 38) cu cele ale lui Curran (1. cit., fig. 3) și în special cu ale noastre, am tras concluzia că Zumpt a comis o identificare greșită și că el nu a cunoscut niciodată adevărata „*condona* Curran, 1934”. Acestea sunt cauzele pentru care noi am atribuit lui *Sarcophaga condona* sensu Zumpt 1972 nouă nume de *Xanthopterisca gadiriana* nom. nov.

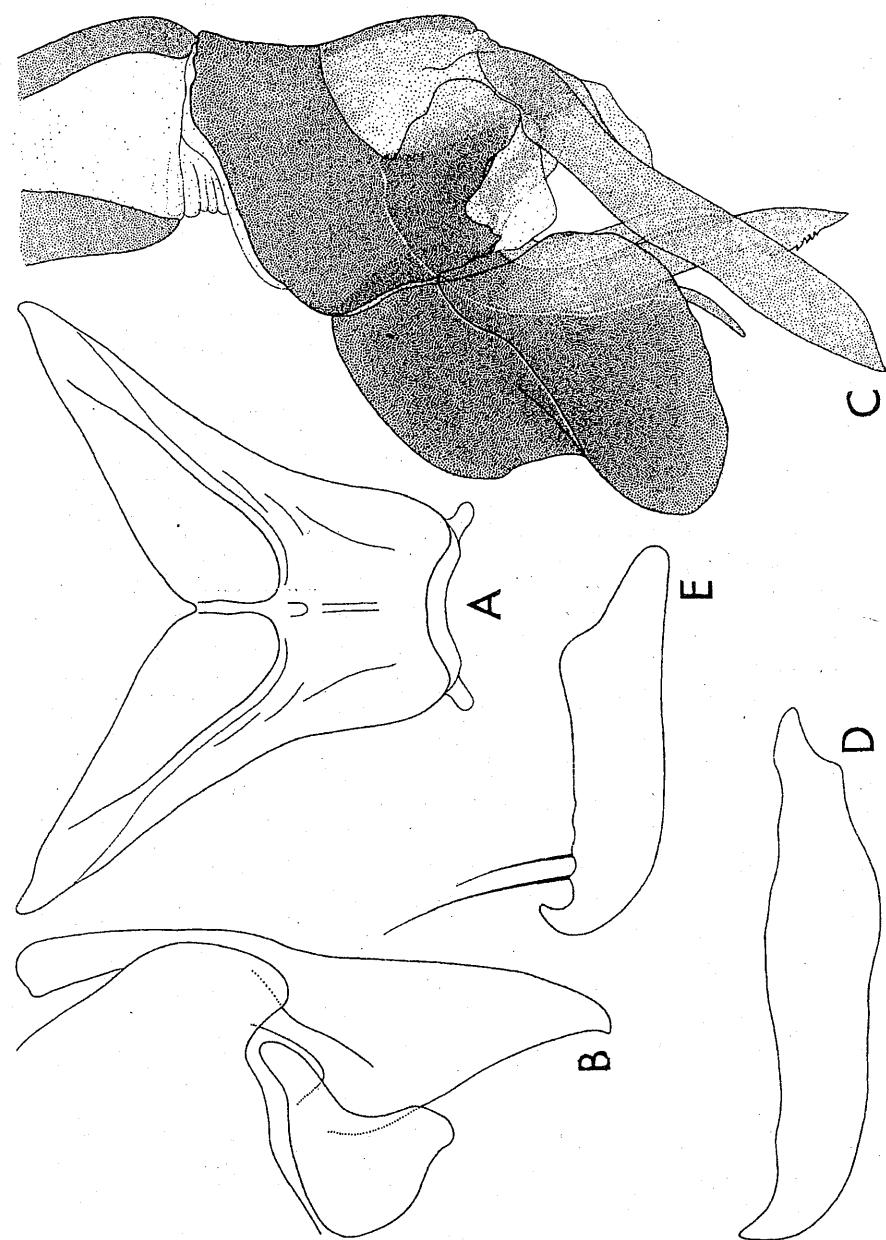


Fig. 1. – Armătura genitală masculă a lui *Xanthopterisca condona* (Curran). A = sternitul V; B = cerci și paralobii; C = postgonitele; D = distifalus; E = pregonitele.

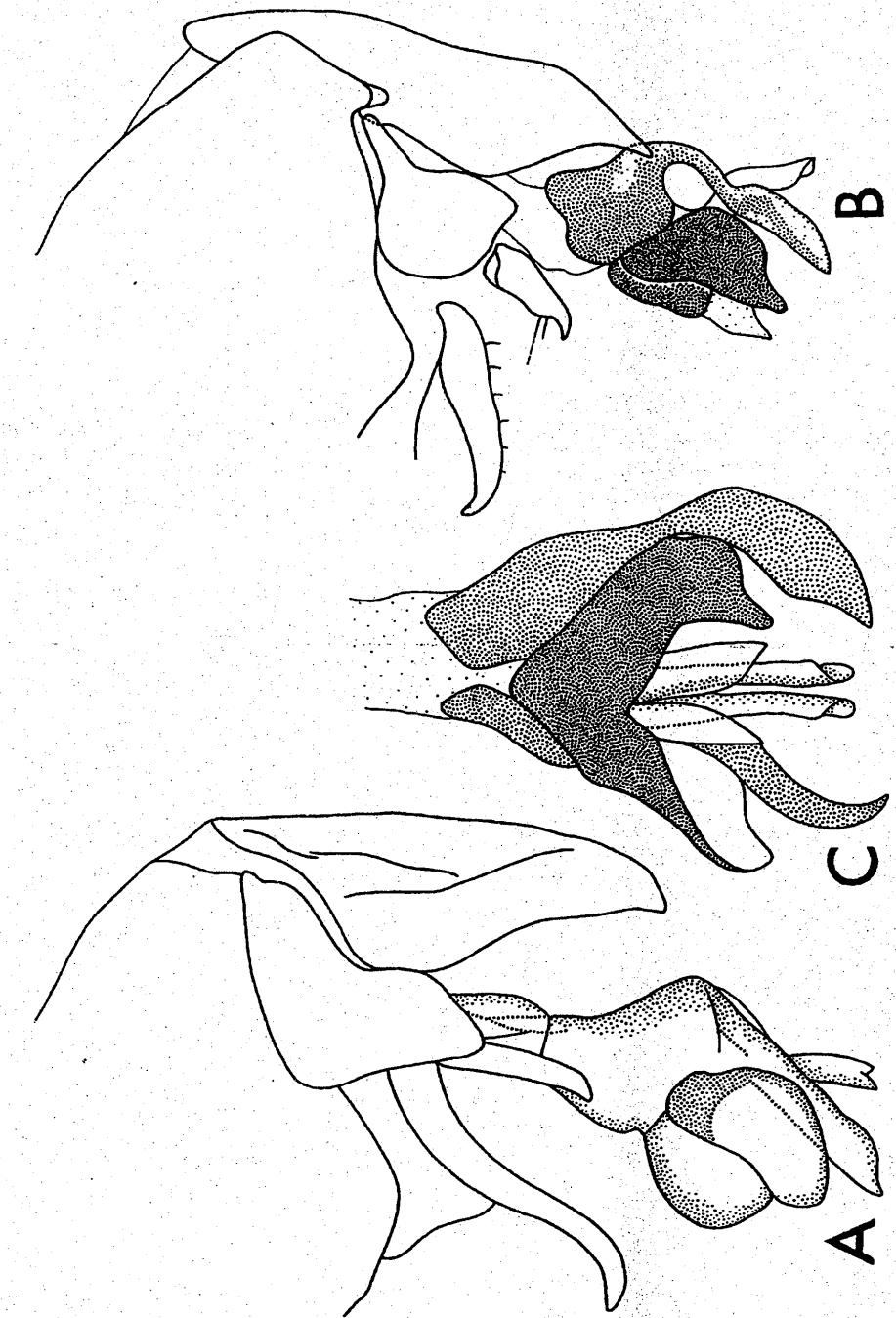


Fig. 2. – Armăturile genitale ale speciilor *Agria* ? *condona* Curran, 1934 (A) și *Xanthopterisca gadiriana* nom. nov. [pro *Sarcophaga* (*Xanthopterisca*) *condona* sensu Zumpt, 1972] (B, C), puțin simplificate și modificate.

2. Xanthopterisca gadirana nom.nov.

= *Sarcophaga condona* sensu Zumpt 1951, J. ent. Soc. S. Afr., 14:174 (identificare greșită) - syn. n.

= *Sarcophaga (Xanthopterisca) condona* sensu Zumpt 1972, Explor. Parc Nat. Virunga, 101:88 (identificare greșită) - syn. n.; sensu Dear 1980, Catalogue of afrotropical Diptera, 816 - syn. n.

După desenele armăturii genitale masculine prezентate de Zumpt se constată că cercii, văzuți din profil și semi-profil (fig. 2, B,C,) au o formă foarte diferită de aceea a lui *X. condona* (Curran) (fig. 2, A). Ele nu au aspectul general tringhiular, ci sunt ușor ondulați, curbați în treimea lor distală și au un vârf ascuțit. Lobii membranali externi sunt dezvoltăți, pigmentați și sclerificați, însă ei sunt orientați oblic în jos, au un vârf lat, foarte alungit, după care marginea lor inferioară se lătește mult. Între acești lobi există o pereche de lobi interni transparenti, care depășesc vârful primilor. Apofizele laterale ale părților apicale a parafalusului sunt relativ înguste în jumătatea proximală și, apoi, ele se lătesc de două ori în partea terminală. Stilii par foarte lungi și curbați dorsal și în jos. Pregonitele sunt mai lungi decât postgonitele; primele se subțiază către vârf și apoi se curbează, fiind prevăzute cu numeroși peri scurți pe marginea inferioară; ultimele au o scobitură profundă în zona dorso-apicală, care formează un vârf lung, subțire și puțin curbat, prevăzut cu 2 macrocheți supraterminali (din care ultimul este mai lung decât primul).

Singurul exemplar mascul cunoscut de Zumpt a fost colectat la Sheldon în Cape Province, în august 1950 și se găsește păstrat în colecțiile Institutului de Cercetări Medicale din Johannesburg (Africa de Sud).

BIBLIOGRAFIE

- CURRAN, C.H., Sarcophaginae of the American Museum Congo Expedition, (Diptera), Amer. Mus. Novit, 727:1-31, 1934.
- DEAR, J.P., 91. Family *Sarcophagidae*, în CROSSKEY, R. W., Catalogue of afrotropical Diptera, London, 801-808, 1980.
- ROHDENDORF, B. B., Über das System der Sarcophagini des äthiopischen Fauna, Stutt. Beitr. Naturk., 124:1-22, 1963.
- ZUMPT, F., New *Sarcophaga* species from the Ethiopian region (Diptera: Calliphoridae), J. ent. Soc. S. Afr., 14:171-199, 1951.
- ZUMPT, F., Calliphoridae (Diptera Cyclorrhapha). Part IV: Sarcophaginae. Explor. Parc Nat. Virunga, Miss. G.F. de Witte (1933-1935), Bruxelles, 101:1-264, 1972.

Primit în redacție
la 13 XII 1995

Institutul de Cercetări Biologice,
Laboratorul de Parazitologie
Bd. Copou nr. 20A, 6600-Îași

CITOLOGIA PANCREASULUI ENDOCRIN LA PASAREA CHLORIS CHLORIS L. (FAM. FRINGILLIDAE) CU REFERIRI SPECIALE LA EFECTELE ADMINISTRĂRII DE GLUCOZĂ

ANA GEORGESCU, IOANA TRANDABURU, T. TRANDABURU

Four types of endocrine cells (B-, A-, D- and PP-cells) have been identified in the pancreas of the bird *Chloris chloris* L. by using light and electron microscopy. Most cells from "dark" and "light" islets, but also a variable number of PP-cells occur randomly disseminated in the pancreatic exocrine parenchyma. The "dark" islets contain exclusively A- and D-cells, while the "light" ones all the four endocrine cell types.

The daily i.p. injections of 800 mg glucose/kg body weight for 8 days induced significant hyperglycemia and moderate ultrastructural alterations (partial cytoplasm degranulation and vacuolization, mitochondria swelling, dilatation of the Golgi complexes a.o.) recorded only in the B-cells. The results suggesting a slight stimulation of insulin release under the conditions of high glucose tolerance of this bird are discussed in connection with the findings of other authors.

Pancreasul endocrin al păsării prezintă caracteristici topografice și celulare particulare care îl deosebesc distinct de țesutul insular al celorlalte grupe de vertebrate. Conform investigațiilor histologice și citochimice efectuate la răță (12), (24), găină (5), (13), (15), (22), porumbel (5), (19), gâscă (11), (25) și vrabie (6) caracteristicile principale ale acestei glande endocrine constau în prezența a cel puțin două categorii de insule și în localizarea majoritar extraînsulară a celulelor PP (producătoare de polipeptid pancreatic). O primă categorie o formează insulele „clare” alcătuite preponderent din celule B (producătoare de insulină) cu localizare centrală și un număr redus de celule PP, D (producătoare de somatostatină) și A (producătoare de glucagon). Insulele „întunecate” conțin în special celule A și sporadic celule din celelalte tipuri, fără o localizare preferențială. În sfârșit, cea de a treia categorie de insule, denumite insule „mixte”, au fost observate la *Galinaceae* și cuprind în proporție relativ egală celule din tipurile A, B și D (15).

Implicitarea hormonilor pancreatici în reglarea metabolismului glucidic a fost studiată mai ales la păsări normoglicemice (6), (7), (8), (23), (28) sau pancreatectomizate parțial (2), (4), (24) și numai foarte rar la cele cu disfuncții metabolice induse experimental (9), (21). Rezultatele obținute în această direcție pledează în favoarea unei intervenții rapide și eficiente a acestor hormoni în reglarea glicemiei. Cu toate acestea, contrar concluziei de mai sus, unele date relativ recente (1), (16) indică incertă eliberarea insulinei indusă cu glucoză, la cel puțin două specii de păsări.

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t.48, nr. 1, p. 9-15, București, 1996

Pornind de la situația de mai sus lucrarea de față își propune:

- cunoașterea organizării și a compoziției celulare a pancreasului endocrin la florinte (*Chloris chloris L.*), specie necercetată până în prezent;
- evidențierea răspunsului morfolofuncțional al glandei, consecutiv administrării repetitive de glucoză.

MATERIAL ȘI METODĂ

Pentru experiment, efectuat în luna august, s-au folosit 10 păsări adulte. Un număr de 7 exemplare au fost injectate intraperitoneal (i.p.) cu o doză zilnică de 800 mg/kg gr. corp timp de 8 zile, iar 3 exemplare netratate au folosit drept control. Animalele tratate au fost private de hrana cu 12 ore înainte de fiecare administrare a glucozei. Sacrificarea tuturor animalelor s-a făcut prin decapitare la un interval de 150 minute după administrarea ultimei doze de glucoză. Imediat după sacrificare, de la fiecare exemplar, au fost prelevate probe de sânge pentru determinarea glicemiei și fragmente de pancreas în vederea investigațiilor de microscopie optică și electronică.

Glicemile au fost determinate spectrofotometric prin metoda cu o-toluidină (10), iar valorile obținute au fost exprimate în mg glucoză/100 ml sânge total.

Pentru observațiile de microscopie optică, fragmentele de pancreas au fost fixate 3 zile în lichidul fixator Bouin-Hollande, incluse în parafină și secționate la 9 μ grosime. Secțiunile au fost colorate cu hemalaun-eozină, cromalaun-hermatoxilin-floxină, pseudoizocianină (3) și prin impregnare argentica (14). Preparatele colorate cu pseudoizocianină au fost examineate și fotografiate în lumină monocromatică de 580 nm.

În vederea obținerii preparatelor de microscopie electronică, fragmente mici de țesut pancreatic au fost fixate 2 ore într-o soluție de 2,5% glutaraldehidă în 0,1 M tampon fosfat Sorensen (pH 7,4). Ulterior, fragmentele au fost postfixate într-o soluție de 1% OsO₄ preparată în același tampon fosfat și incluse în Durcupan ACM (Fluka AG, Buchs). Secțiunile ultrafine, obținute la un ultramicrotom Tesla BS-490 A au fost contrastate succesiv cu acetat de uranil (Watson, 1958) și citrat de plumb (Reynolds, 1963). Preparatele au fost examineate cu un microscop electronic Tesla BS 500 (50 KV).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Investigațiile combinate de microscopie optică și electronică au relevat prezența a 4 tipuri de elemente endocrine (celule B, A, D și PP), cuprinse în două categorii de insule care diferă prin aspect, dimensiuni și compoziție celulară. În plus, un număr considerabil de celule PP au fost detectate sub formă de elemente izolate în masa țesutului pancreatic exocrin.

O primă categorie de insule, relativ numeroase și de dimensiuni mari a fost localizată cu precădere în lobul splenic al pancreasului. În preparatele de microscopie optică ele prezintau un aspect întunecat, fiind constituite în principal din celule A și un număr redus de celule D cu localizare periferică (fig. 2,4). O a doua categorie de insule, mai puțin frecvente și de dimensiuni reduse, a fost observată în toată

masa țesutului exocrin. În aceste insule cu un aspect clar au fost identificate toate cele 4 tipuri de elemente endocrine (fig. 3). Ca și în cazul insulelor „întunecate”, în cele „clare” celulele D au o dispoziție periferică. Din punct de vedere cantitativ, celulele A par să reprezinte elementul endocrin predominant în insulele „clare”. Aceste observații referitoare la insulele „clare” diferă de cele raportate de alți autori (11), (18), (27). La majoritatea speciilor investigate, aceștia au constatat localizarea centro-insulară și preponderența numerică a celulelor de tip B.

Investigațiile ultrastructurale au confirmat atât existența celulelor endocrine B, A, D și PP, cât și compoziția celulară calitativă și cantitativă a celor două categorii de insule („întunecate” și „clare”). Referitor la tipurile de celule, acestea au fost identificate în principal pe baza caracteristicilor morfologice ale granulelor de secreție.

Celulele B conțin granule de secreție cu miezul rotund, oval sau acicular, despărțit de membrana înconjurătoare printr-un spațiu clar, bine exprimat. De regulă, miezul ocupă o poziție excentrică în cadrul granulelor. Diametrul aparent al acestui tip de granule este de $174,19 \pm 2,82$ nm (fig. 5,6).

Granulele de secreție ale *celulelor de tip A* prezintă dimensiunile cele mai mari ($253,30 \pm 10,25$ nm), iar profilul miezelui, de regulă rotund, ocupă o poziție centrală în cadrul lor. Membranele granulelor, frecvent incomplete, delimităază un halou bine pronunțat între ele și miezul puternic osmofil (fig. 7).

Celulele D, minoritare în ambele categorii de insule, cuprind granule de secreție cu miezul rotund sau oval și cu dimensiuni apropiate de cele ale granulelor din celulele B și A ($163,5 \pm 4,10$ nm). Miezul lor este mai puțin osmofil în comparație cu cel al granulelor tipurilor de celule sus-menționate, iar membranele înconjurătoare - strâns atașate de acesta (fig. 8).

În sfârșit, *celulele PP*, prezente atât în insulele „clare”, dar și extrainsular, conțin granule cu miezul dens și puternic osmofil, separat de membrana înconjurătoare printr-un halou clar cu lățime variabilă. Aceste granule, de regulă cu miezul rotund, au dimensiunile cele mai reduse ($111 \pm 11,09$ nm), în raport cu celelalte tipuri de granule (fig. 5,6).

Observațiile de mai sus, referitoare la tipurile de granule de secreție și implicit tipurile de celule ale pancreasului endocrin la florinte, se înscriu în tabloul general al ultrastructurii acestei glande la alte specii de păsări (6), (19), (25).

Tratamentul cu glucoză a produs modificări morfologice moderate, observate cu precădere la nivel submicroscopic numai în celulele B. În acest tip de celule aportul de glucoză exogenă a indus vacuolizarea parțială a citoplasmăi, în principal prin disoluția conținutului granulelor de secreție, dar și prin dilatarea cisternelor ergastoplasmice (fig. 9, 10). Mitochondriile apăreau umflate și sporadic vacuolizate, în timp ce în rarele cazuri în care complexele Golgi au putut fi observate, acestea se prezintau hipertrofiate și cu cisternele dilatate. Alterările morfologice de mai sus, sugerând în opinia noastră hiperfuncție moderată și tranzitorie a celulelor producătoare de insulină, confirmă parțial rezultatele obținute anterior în urma administrărilor repetitive *in vivo* a unor doze variate de glucoză: găină - 700 mg/kg

gr. corp. (12), rață - 750 mg/kg gr. corp. (25) etc.. Ele sunt indirect susținute și de rezultatele experimentelor *in vitro* efectuate la Galinaceae, pe fragmente de organ care indică stimularea secreției de insulină, consecutivă perfuziei de glucoză (500-700 mg/dl/oră)(11). În acest context, absența oricărui modificări ultrastructurale în pancreasul endocrin al pinguinilor remarcată de Chieri(1), după tratamentul cu doze mari (1000 mg glucoză/kg gr. corp.), reprezintă un rezultat singular, datorat probabil rezistenței sporite a acestei specii față de glucoză.

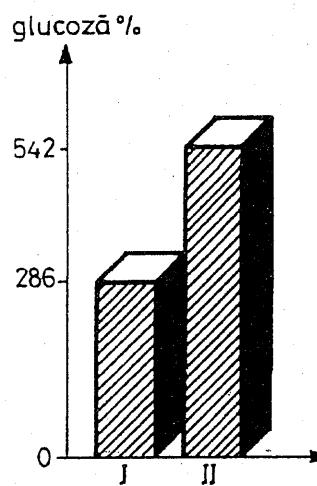


Fig. 1. – Valorile medii ale glicemiei obținute la animalele din lotul martor (I) comparativ cu lotul tratat (II) căruia i s-a administrat o doză zilnică de glucoză (800 mg/kg gr. corp), timp de 8 zile.

În condițiile prezentului experiment, tratamentul cu glucoză a indus creșterea semnificativă a glicemiei (în medie cu 89,5 % față de lotul de control) (fig. 1). Creșteri variate ale glicemiei (100-200 %) au fost raportate și la alte specii (găină, gâscă, rață) consecutiv perfuzării *in situ* a pancreasului (11), (13), (26) sau injectării intravenoase a animalelor (21) cu glucoză. În plus, hiperglicemiile obținute de noi confirmă concluzia lui Klandorf (17), potrivit căreia glicemiiile obținute după administrările orale sau i.p. ale glucozei au valori mai mici și durate de normalizare mai lungi, în comparație cu cele înregistrate după injectarea intravenoasă a acelorași doze de glucoză.

Fig. 2. – Evidențierea unei insule „întunecate” din pancreasul speciei *Chloris chloris* L. (florinte) prin colorare cu pseudoizocianină (Coalson, 1966); fotografarea în lumină monocromatică de 580 nm; celule A (A); (X 480).

Fig. 3. – Evidențierea celulelor B (B) dintr-o insulă „clară” prezentă în pancreasul de florinte (→) prin colorare cu pseudoizocianină (Coalson, 1966); fotografarea în lumină monocromatică de 580 nm (X 480).

Fig. 4. – Detectarea histochemicală a celulelor D dintr-o insulă „întunecată” (→); impregnare argentică după Hellman și Hellerström (1966); (X 200).

Fig. 5. – Porțiune dintr-o insulă „întunecată” din pancreasul de florinte conținând celule B și PP. Se remarcă granule de insulină (→), polipeptid pancreatic ↔(→); m - mitocondrie; L - lizozomi; N - nucleu; E - țesut exocrin; (X 15700).

Fig. 6. – Detaliu dintr-o celulă B, din pancreasul endocrin de florinte. Se poate observa heterogenitatea miezului granulelor de secreție; (X 15700).

Fig. 7. – Porțiune dintr-o celulă A din pancreasul endocrin al speciei *Chloris chloris* L.; se remarcă forma rotundă a miezului granulelor (→); L - lizozom; N - nucleu; E - țesut exocrin; (X 14600).

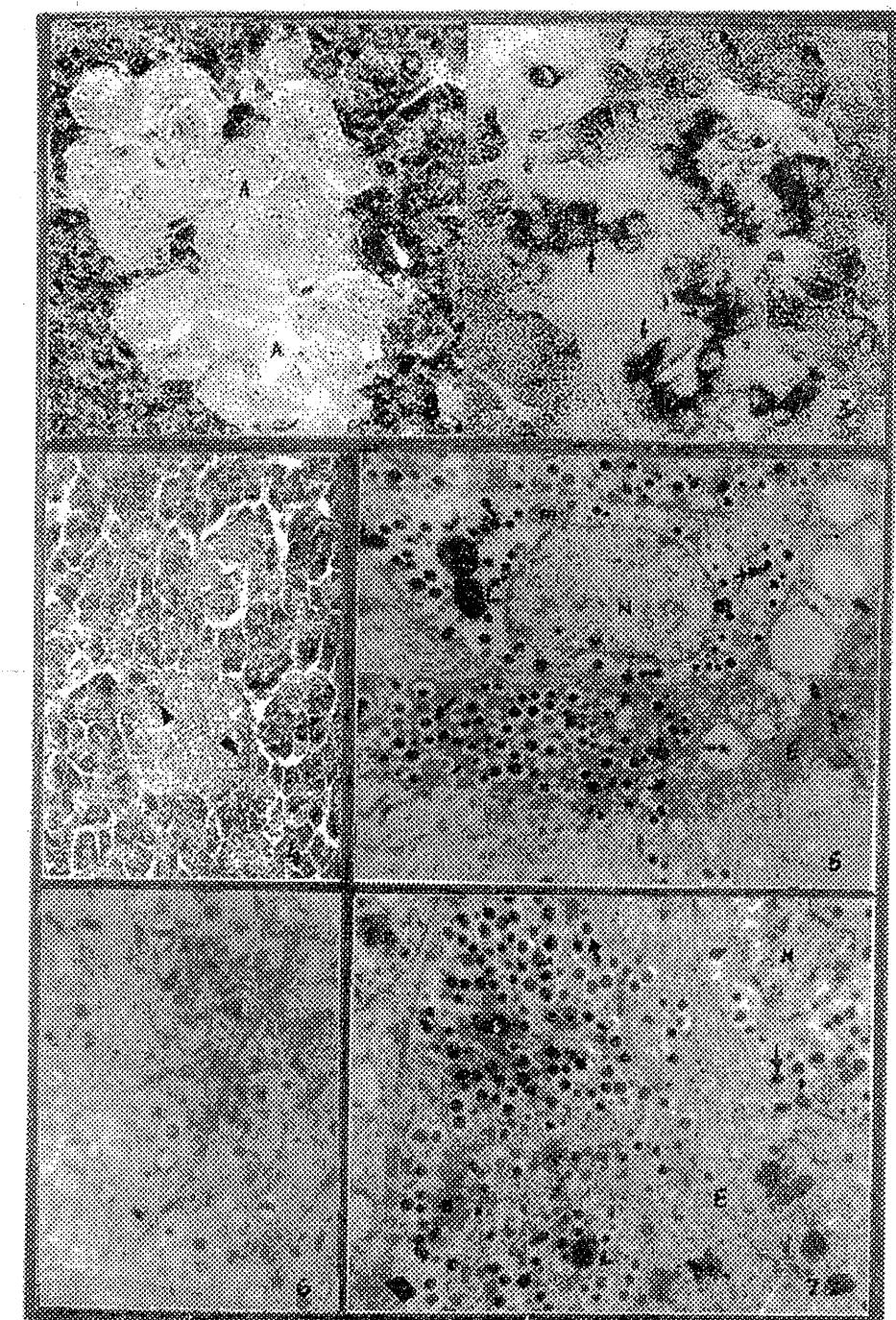


Fig. 2 - 7

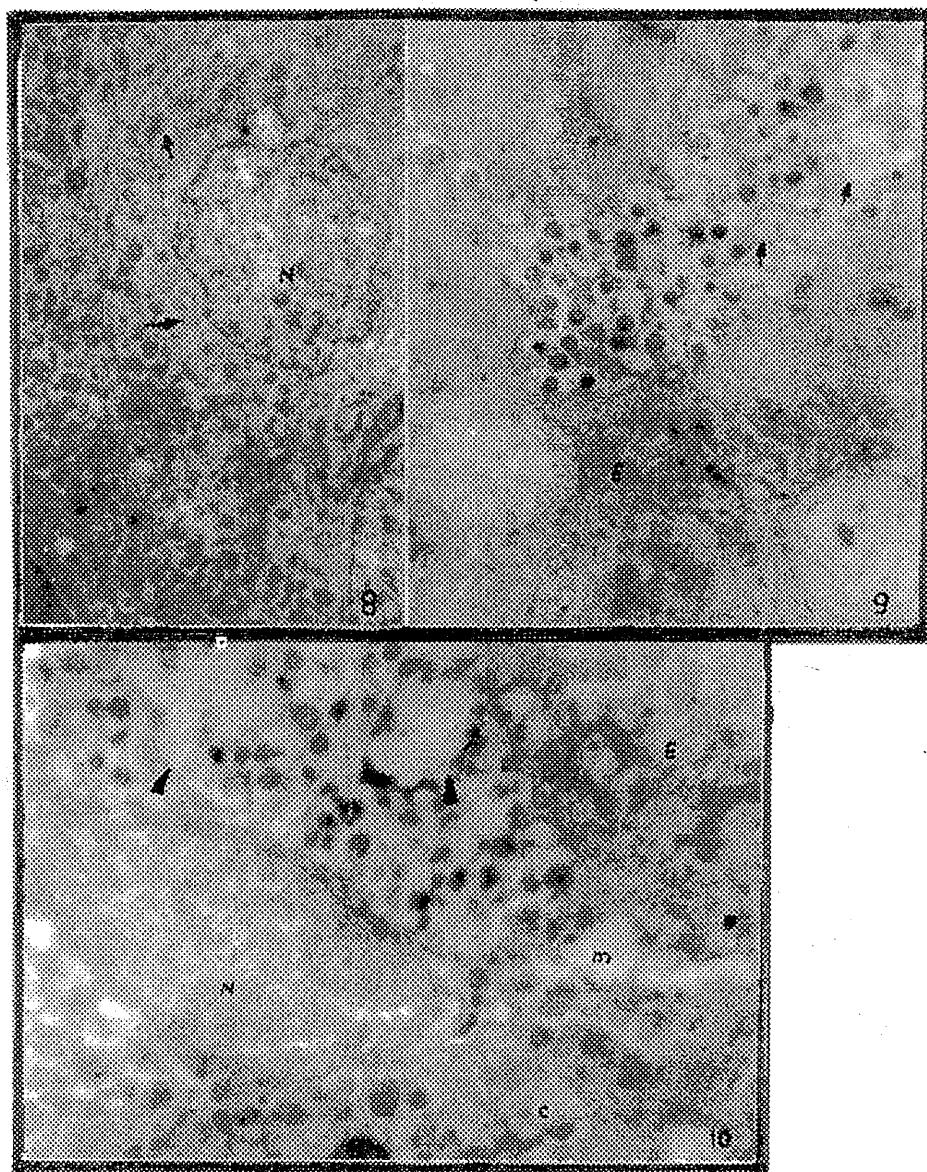


Fig. 8. – Celulă D în pancreasul endocrin de florinte. Se evidențiază conținutul osmiofil moderat al granulelor de secreție (→); (X 17900).

Fig. 9, 10. – Aspectul celulelor B după tratamentul cu glucoză; se remarcă degranularea parțială (→), vacuolizarea parțială a citoplasmei (►); m - mitocondrii umflate; C - cisterne dilatate; N - nucleu; E - țesut exocrin; (X 20250).

CONCLUZII

1. Pancreasul endocrin al speciei *Chloris chloris* L. este constituit din două categorii de insule („întunecate” și „clare”) segregate prin compozitia lor celulară, precum și dintr-un număr de celule izolate în masa parenchimului endocrin.
2. Au fost identificate 4 tipuri de celule endocrine (B, A, D și PP) distribuite în felul următor:
 - în insulele „întunecate” - celule A și D;
 - în insulele „clare” - celule B, A, D și PP;
 - în țesutul pancreatic exocrin - celule izolate de tip PP.
3. Tratamentul cu glucoză a indus hiperglicemii semnificative și alterări morfologice moderate, apreciate ca reversibile, exclusiv la nivelul celulelor B.

BIBLIOGRAFIE

1. CHIERI R.A1., BASABE J.E., FARINA J.M.S., FOGLIA V.G., Gen. Comp. Endocrinol, **18**:1-4, 1972.
2. CIESLAK S.R., HAZELWOOD R.L., Gen. Comp. Endocrinol, **63**:284-294, 1986.
3. COALSON R.E., Stain. Technol., **41**:121-131, 1966.
4. COLCA J.R., HAZELWOOD R.L., J. Endocrinol, **92**:317-326, 1982.
5. COWAP J., Gen. Comp. Endocrinol, **60**:131-137, 1985.
6. EPPEL A., FARNER D.S., Z. Zellforsch., **79**:185-197, 1967.
7. EXTON J.H., Part II Elsevier Science, Publ. B.V., 231-264, 1988.
8. FINK A.S., DEMAR A.R., GETTYS T.W., TAYLOR I.L., Pancreas, **323**-329, 1990.
9. FOLTZER C., MIALHE P., Diabetes and Metabol., **6**:257, 1980.
10. GHETIE S., TRIPCOVICI E., St. cerc. biochim., **2**:183-190, 1964.
11. HAZELWOOD R.L., CIESLAK S.R., Gen. Comp. Endocrinol, **73**:308-317, 1989.
12. HAZELWOOD R.L., The endocrine pancreas of aves, Prentice Hall, E. Cliffs, 1989.
13. HAZELWOOD R.L., STURKIE P.D., Avian Physiol., **210**, 1976 b.
14. HELLMAN Bo., HELLERSTRÖM C., Z. Zellforsch., **52**:278-290, 1960.
15. IWANAGA T., YUI R., FUJITA T., In: MIKAMI S., Hamna K., Wada M. (eds.), Avian Endocrinol, Springer, Berlin - Heidelberg - New-York, 81-94, 1983.
16. JANSSON L., HERMONSEN C., Am. J. Phisiol., **251**:E 644-E 647, 1986.
17. KLANDORF H., Gen. Comp. Endocrinol, **69**:226-232, 1988.
18. KLIPA et colab., The endocrine pancreas of aves, Prentice Hall, E. Cliffs, 1989.
19. KOBAYASCHI S., FUJITA T., Z. Zellforsch., **100**:340, 1969.
20. LANGLOW D.R., et colab., Diabetologia, **11**:357, 1975.
21. LAURENT R., GROSS R., LAHILI M., MIALHE P., Diabetologia **20**:72-77, 1981.
22. MEGLASSON M.D., HAZELWOOD R.L., Gen. Comp. Endocrinol, **56**:82-89, 1984.
23. MIALHE P., Pergamon Press, 291, 1976.
24. MIKAMI S.I., ONO K., Endocrinol., **71**:464-473, 1972.
25. SAMOLS R. et colab., Excerpta Med. Int. Congr. Ser., **184**:206-219, 1969 b.
26. STIBOŃ G., MIALHE P., Gen. Comp. Endocrinol, **18**:624, 1982.
27. STURKIE P.D. et colab., Avian Physiol., 1970.
28. SUSMAN K.E., LEITNER J.W., DRAZNIN B., Diabetes, **571**-579, 1987.

Primit în redacție
la 12 noiembrie 1995

Institutul de Biologie
București, Splaiul Independenței nr. 296

HISTIOCITOZA „X” LA COPIL

D. GEORGESCU*, FLORICA ENĂCHESCU**, S. NICOLAU**,
MARIA ȘERBĂNESCU***, MARIA PLEȘA*

Histiocytosis X is represented by a very rare group of affections, X standing for the unknown. Histopathologically speaking, a massive infiltrative and diffuse histocyte proliferation is noticed with different localization. Evolution is variable, tricky with unforeseeable prognosis.

INTRODUCERE

Histiocitoza „X” este o afecțiune rară, de cauză necunoscută, ce interesează, în special, vîrstă copilarie, cu o ușoară predominanță a sexului masculin. Singura formă de histiocitoză, care are componentă genetică definită, este limfohistiocitoza eritrofagocitică familială.

Formele de histiocitoză sunt diferențiate corect numai histopatologic, iar asocierea câtorva boli și sindroame ale copilariei într-o singură categorie de histiocitoză a rezultat din constatăriile histopatologice care, cel puțin la nivel superficial, pare să fie comune la toate aceste boli.

Originea comună a afecțiunilor, regrupate în cadrul Histiocitozei „X”, rezidă din natura similară a leziunilor histopatologice, reprezentate de proliferarea histiocitară.

Principaliii factori de prognostic în Histiocitoza „X” sunt: vîrstă bolnavului; difuziunea bolii și importanța țesuturilor și organelor afectate. Cel mai important dintre acești factori de prognostic pare a fi vîrstă la debutul afecțiunii, formele cele mai grave sunt întâlnite la vîrste mici, explicându-se în acest fel mortalitatea crescută sub două luni (77%). De asemenea, prezența a 7-9 localizări diferite, cuprinzând țesuturi și organe ale aceluiasi bolnav (tegument, schelet, ficat, splină, plămân etc.), determină o mortalitate de 100%.

Recent s-a propus un sistem pentru clasificarea histiocitozelor copilariei (27). Acest sistem de clasificare este histopatologic și grupează formele majore ale histiocitozelor în trei clase. Clasa I de histiocitoze, în care celula centrală este celula Langerhans (LCH), formal cunoscută ca Histiocitoza „X”, care cuprinde granulomul eozinofil, boala Hand-Schüller-Christian și boala Letter-Siwe (1-17). LCH nu este considerată neoplasm, ci o leziune proliferativă (7-17) cu celule Langerhans care conțin granule Birbeck (6, 8, 21) și densități mari de histiocite fagocitice (16). S-a sugerat, totuși, că LCH ar putea fi o malignitate, dar nu există suport experimental. Proliferări maligne cu celule Langerhans au fost rar descrise (2, 4). Clasa a II-a de histiocitoze include histiocitozele nemaligne, iar monocit-

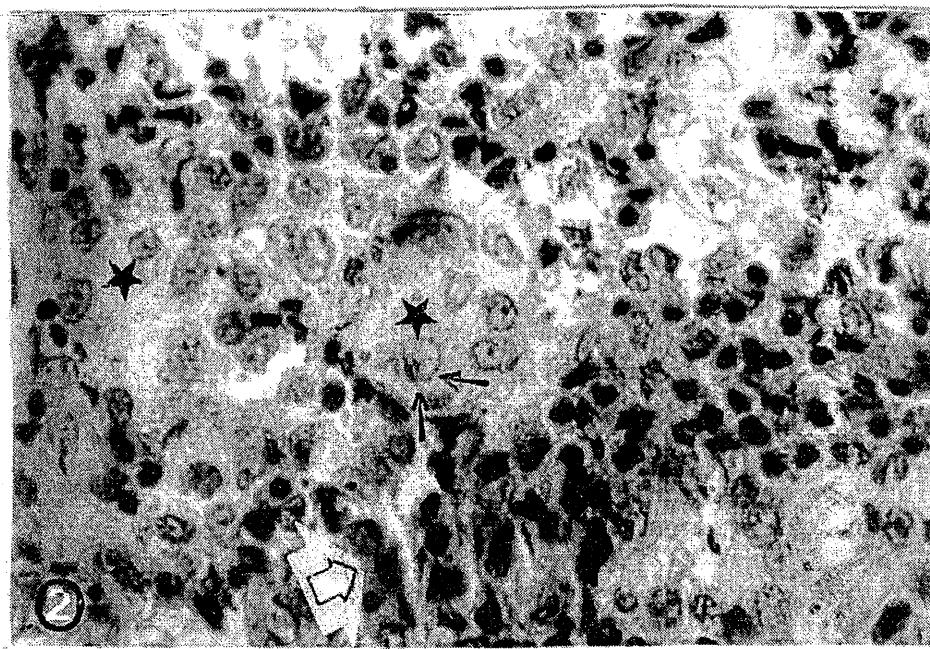
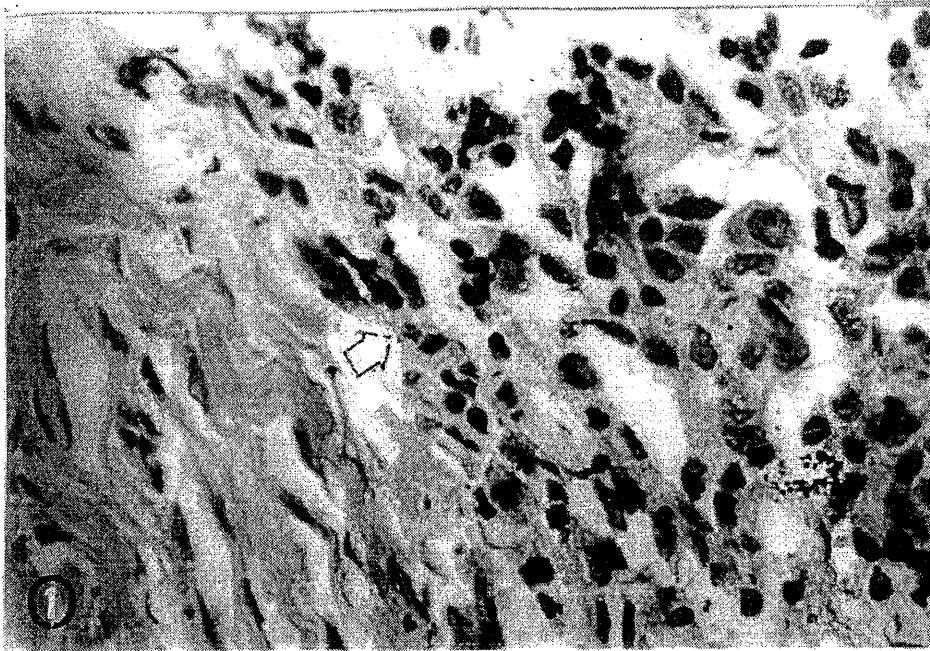


Fig. 1. – Infiltrat limfocitar la nivelul dermului. Sunt prezente numeroase limfocite, granulocite, monocite, plasmocite și foarte rare histiocite (x 1830).

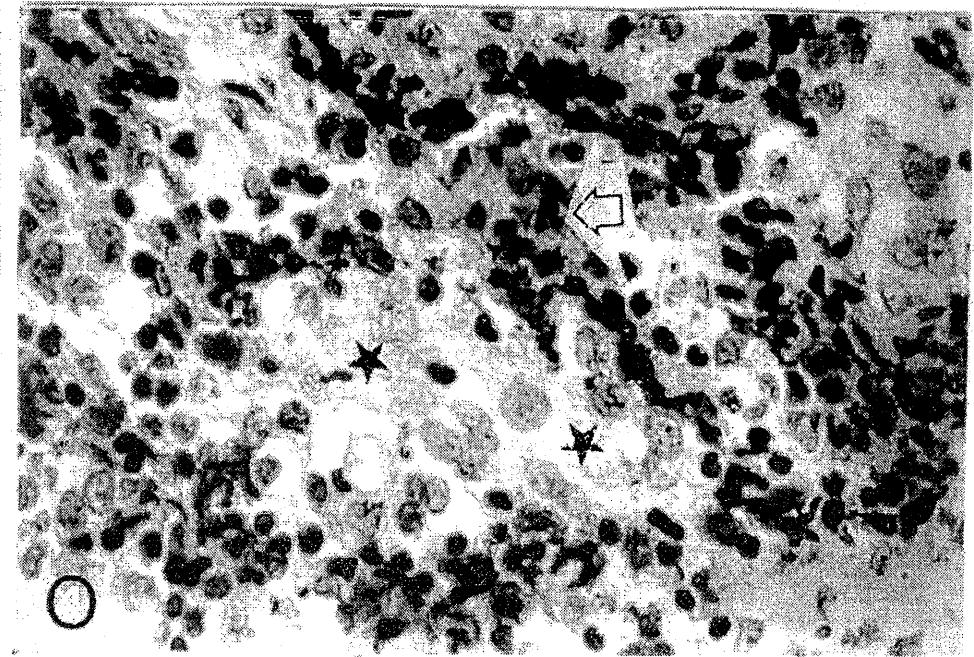
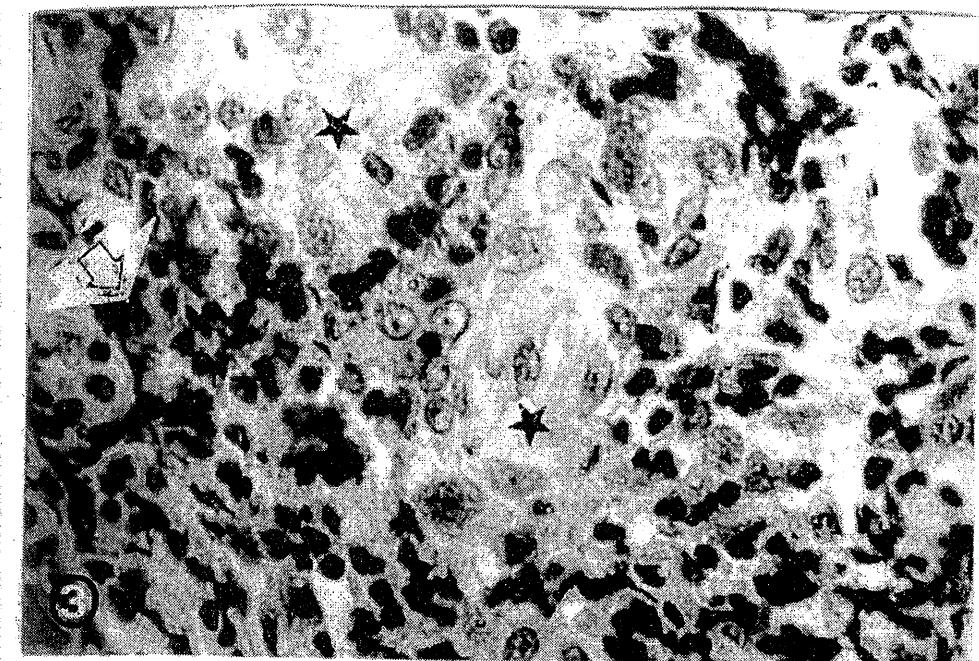


Fig. 2, 3, 4. – „Plaje” cu numeroase histiocite ale căror nuclei prezintă uneori nucleoli în „ochi de bufniță”, iar unele au citoplasme bogate în vacuole lipidice (stelușă). Sunt prezente numeroase limfocite, granulocite, monocite și plasmocite (x 1830).

macrofagul normal este celula preponderentă, frecvent în combinație cu un infiltrat limfohistiocitar. Din punct de vedere histopatologic, în clasa a II-a de histiocitoze, nu există atipie a celulelor implicate (11, 18). Clasa a II-a se caracterizează printr-o acumulare secundară clară de histiocite, dar mecanismul care determină aceste acumulări rămâne necunoscut (12). Clasa a III-a de histiocitoze cuprinde modificări maligne ale fagocitelor mononucleare, inclusiv leucemia monocitică acută, histiocitozele maligne și sarcomul histiocitic. Aceste trei malignități sunt legate de diferite stadii de maturare și diferențiere din serile mononucleare. Histiocitoza malignă este o implicare malignă sistemică a întregului sistem reticuloendotelial (5, 9).

MATERIAL ȘI METODE

Au fost prelevate fragmente de noduli dermohipodermici de la copii între 3 și 4 ani, rezultate în urma unor biopsieri cutanate realizate în cadrul Institutului Oncologic București. Lamele obținute au fost colorate, examinate și fotografiate la un microscop optic de tip Docuval.

REZULTATE

Aspectul histopatologic relevă o proliferare histiocitară masivă, alături de histiocite este prezentă o reacție nespecifică constituită din plasmocite, limfocite, granulocite (mai ales eozinofile) și monocite (fig. 1, 2, 3, 4; săgeata albă). Afectarea cutanată pare să înceapă cu apariția unui infiltrat limfocitar la nivelul dermului (fig. 1; săgeata albă), apoi se evidențiază numeroase histiocite grupate sub forma unor „plaje” mai mult sau mai puțin întinse (fig. 2, 3 și 4; steluță). Sunt prezente histiocite de diferite mărimi (fig. 2, 3, 4). Nucleii unora dintre ele prezintă nucleoli cu aspect de „ochi de bufniță” (termen consacrat în anatomo-patologie) (fig. 2; săgeți). Citoplasmale, în general, sunt încărcate cu lipide (fig. 2, 3, 4). Din loc în loc se pot observa zone de țesut conjunctiv și fibre conjunctive (fig. 1, 2, 3, 4).

DISCUȚII

Termenul de histiocitoză semnifică creșterea în număr a histiocitelor, totuși nu toate bolile în care se evidențiază infilații histiocitare sunt clasificate ca histiocitoze. În unele cazuri, infilația histiocitară reprezintă, mai degrabă, un proces secundar decât un proces primar. Asta presupune că se poate constata dacă bolile, clasificate în mod curent ca histiocitoze, au o etiologie care stabilește infilația histiocitară ca proces secundar și nu primar, dar acest fenomen este înțeles după cunoașterea histiocitelor normale și a originii lor. Histiocitele sunt macrofage tisulare care populează diferite țesuturi și organe. Aceste celule pot realiza fagocitoza datorită unei activități lizozomale abundente (mai ales prin fosfataza acidă și esteraza nespecifică) (3,22). Activitatea pentru lizozima și α_1 antitripsină este mai mare în histiocitele epiteliale (15). Cea ce lizozimea descrește brusc cu fagocitoza, probabil datorită pierderii sale în vacuole lizozomale (15). În sprijinul unui diagnostic corect s-a descoperit o varietate de anticorpi monoclonali pentru monocite și macrofage în general, dar s-a constatat că nu există o specificație pentru sistemul fagocitar mononuclear (24). La fel, au fost detectați mai mulți antigeni prezenti pe monocite și macrofage, dar și pe alte celule (10,13,19,21,25).

Câteva teorii au explicat fiziopatologia histiocitozelor majore, severe, ale copilariei unde se suspectează că stimularea imunologică a unei celule normale Langerhans continuă într-o manieră necontrolată, conducând la proliferarea și acumularea acestor celule. La unii pacienți cu histiocitoză există fenomenul de autotoxicitate sau de distrucție a propriilor fibroblaste și eritrocite, aceste descoperiri fiind asociate cu histologia timică anormală (7,17).

În cazul sindromului limfocitocitic se produce excesiv limfokină de către limfocitele T normale sau neoplazice, explicându-se astfel fenomenul de inducție fagocitară (11,14,23).

Aspectul histopatologic al nodulilor dermo-hipodermici investigați, cât și vîrstă copiilor biopsiați (între 3 și 4 ani) arată o evoluție cronică a bolii. Boala se încadrează în forma Hand-Schüller-Christian care are o evoluție lentă, cu o stabilizare prelungită sau chiar vindecare. Evoluția cronică în boala Hand-Schüller-Christian dă posibilitatea histiocitelor, proliferate rapid, să se încarce cu lipide, fenomenul numindu-se lipofagie. Supraîncărcarea lipidică nu este decât un fenomen secundar al acestei boli, caracteristic, de altfel, proliferărilor reticulohistiocitare. Alături de această proliferare histiocitară masivă, este prezentă o reacție celulară inflamatorie nespecifică constituită din limfocite, plasmocite, granulocite (mai ales eozinofile) și monocite. De reținut este faptul că și o asemenea stare cronică a bolii poate să evolueze spre o agravare, cu apariția unor localizări noi și suprainfectări frecvente, trecând spre formă acută și generalizată a bolii.

În cazul nostru, deși leziunile interesează dermo-hipodermul, localizarea unui astfel de nodul la nivelul scalpului, în unul din cazuri, ne face să credem că boala va cuprinde și calota osoasă, fapt ce ar arăta clar o tendință de evoluție spre noi localizări și ne conduce spre un pronostic sever al bolii.

BIBLIOGRAFIE

1. AVER M. E., MAC AFFE J. G., The course and prognosis of reticuloendotheliosis (eosinophilic granuloma, Schüller-Christian disease and Letterer Siwe disease). A study of forty cases, Am. J. Med., 22:636-652, 1957.
2. BONETTI F., KNOWLES D. M., CHILOSI M., et al., A distinctive cutaneous malignant neoplasm expressing the Langerhans cell phenotype, Cancer, 55:2417-2425, 1985.
3. BRAZIEL R. M., HSU S-M, JAFFE E. S., Lymph nodes, spleen and thymus. Application of histochemistry to Pathologic Diagnosis, 203-256 , 1986.
4. DANIEL S. E., SCARAVILLI F., HAYWARD R., HENRY K., Primary intracranial histiocytic lymphoma with Langerhans granules, Cancer, 56:2816-2822, 1985.
5. DUCAMAN B. S., WICK M. R., MORGAN T. W., et al., Malignant histiocytosis. A clinical, histologic, and immunohistochemical study of 20 cases, Hum. Pathol., 15:368-377, 1984.
6. FAVARA B. E., MC CARTHY R. C., MIERAN G. W., Histiocytosis „X”, Pathology of Neoplasia in Children and Adolescents, 126-144, in Finegold M(ed), Philadelphia, W, B Saund, 1986.
7. HAMOUDI A. B., NEWTON W. A Jr., MANCER K., et al., Thymic changes in histiocytosis, Am. J. Clin. Pathol., 77:169, 1982.
8. HARRIST T. Y., BHAN A. K., MURPHY G. F., et al., Histiocytosis „X”. In situ characterization of cutaneous infiltrates with monoclonal antibodies, Am. J. Clin. Pathol., 3:294-300, 1983.

9. HUHN D., MEISTER R., Malignant histiocytosis. Morphologic and cytochemical findings, *Cancer*, **42**:1341-1349, 1978.
10. HSU S-M., YANG K., JAFFE E. S., Phenotypic expression of Hodgkin's and Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease, *Am. J. Pathol.*, **118**:219-217, 1985.
11. JAFFE E. S., COSTA J., FANCI A. S., et al., Malignant lymphoma and erythrophagocytosis simulating malignant histiocytosis, *Am. J. Med.*, **75**:1741-1749, 1983.
12. KJELDSBERG C. R., KIM H., Eosinophilic granuloma as an incidental finding in malignant lymphoma, *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **104**:173, 1980.
13. LANDO Z., SARIN P., MEGSON M., et al., Association of human T cell growth factor receptor, *Nature*, **305**:733-735, 1983.
14. MARGOLIK J. B., AMBRUS J. L. Jr., VOLKMAN D. J., Human T4+ lymphocytes produce a phagocytosis-inducing factor (PIF) distinct from interferon and interferon, *J. Immunol.*, **136**:546-554.
15. MASON D. Y., TAYLOR C. R., The distribution of muramidase (lysozyme) in human tissues, *J. Clin. Pathol.*, **28**:124-132, 1975.
16. MC MILLAN E. M., HUMPHREY G. B., STONEKING L., Analysis of histiocytosis X infiltrates with monoclonal antibodies directed against cells of histiocytic, lymphoid, and myeloid lineage, *Clin. Immunol. Immunopathol.*, **3**:295-301, 1986.
17. OSBAND M. E., LIPTON J. M., LAWIN O., Histiocytosis X, Demonstration of abnormal immunity, T-cell histamine H₂-receptor deficiency, and successful treatment with thymic extract, *New Engl. J. Med.*, **304**:146-153, 1981.
18. RISDALL R. J., MCKENNA R. W., NESBIT M. E., Virus associated hemophagocytic syndrome distinct from malignant histiocytosis, *Cancer*, **44**:993-1002, 1979.
19. ROBB R. J., GREENE W. C., Direct demonstration of the identity of T cell growth factor binding protein and the Tac antigen, *J. Exp. Med.*, **158**:1332-1340, 1983.
20. ROWDEN G., CONNELLY E. M., WINKELMAN R. K., Cutaneous histiocytosis X. The presence of S-100 protein and its use in diagnosis, *Arch. Hematol.*, **119**:553, 559, 1983.
21. SCHWARTING R., STEIN H., WANG C. Y., The monoclonal antibodies S-HCL₁(Leu-14) and S-HCL 3(Leu-M₅) allow the diagnosis of hairy cell leukemia, *Blood*, **65**:974-983, 1985.
22. SHIBATA A., BENNETT J. M., CASTOLDI G. L., Recommended Methods for cytochemical procedures in haematology, *Clin. Lab Haematol.*, **7**:55-74, 1985.
23. SIMRELL C. R., MARGOLICK J. B., CRABTREE G. R., Lymphokine induced phagocytosis lesions (ALL) and malignant lymphoma arising in ALL, *Blood*, **65**:1469-1476, 1985.
24. TODD R. F., NADLER L. M., SCHLOSSMAN S. F., Antigens on human monocytes by monoclonal antibodies, *J. Immunol.*, **126**: 1435-1438, 1981.
25. WOOD G. S., WARNER N. L., WARNKE R. A., Anti-Leu-3/T₄ antibodies react with cells of monocyte/macrophage and Langerhans lineaje, *J. Immunol.*, **131**:212-216, 1983.
26. Writing group of the histiocyte society, Histiocytosis syndromes in children, *Lancet*, **1**:208-209, 1987.

Primit în redacție
la 26 iulie 1995

* Facultatea de Biologie
** Institutul Oncologic București
*** Spitalul clinic Fundeni

EVIDENȚIEREA PRIN MICROSCOPIE OPTICĂ ȘI ELECTRONICĂ A GLICOZAMINOGLICANILOR DIN TRACTUL REPRODUCĂTOR FEMEL LA SUINE

ANCA OANCEA*, OTILIA ZĂRNESCU**, DĂNUȚ TURCU***

The studies carried out within this work aimed at pointing out, by light and electron microscopy, the glycosaminoglycan distribution in swine female reproductive tract. The segments studied by us by Ruthenium red staining were as follows: terminal portion of the oviduct, top and basis of the uterine horns, uterine cervix. By light microscopy, glycosaminoglycans were shown at the apical pole of the secretory cells from the epithelium of reproductive tract mucosa. These secretory cells are more numerous at the uterine horns' level. Under electron microscopy, glycosaminoglycans were identified as compact masses (uterine horns' basis), associated with collagen fibres (top and basis of uterine horns, cervix) and in small amounts at the level of terminal portion of the oviduct. Our results indicate a progressive increase, from oviduct to cervix, in glycosaminoglycans from swine reproductive tract. These data are related with the biochemical results.

Glicozaminoglicanii (GAG) sunt structuri dizaharidice repetitive, cu structură definită, care conțin o hexozamină și un acid hexuronic (sau galactoză) și care se găsesc de obicei legați covalent la o structură proteică („miez” proteic) împreună cu care alcătuiesc proteoglicanii. Aceștia sunt macromolecule ale matricei extracelulară, cu o largă răspândire în aproape toate țesuturile conjunctive. Alături de colagen, laminină și fibronectină, proteoglicanii au un important rol structural și funcțional în organizarea țesuturilor conjunctive.

Datorită caracterului lor polianionic, GAG atrag ionii de semn contrar și moleculele de apă, ceea ce le conferă proprietăți fizice, chimice și biologice deosebite.

Prezența GAG în organele aparatului reproducător femel al mamiferelor este cunoscută de mult timp (1) și a fost asociată cu rolul GAG în procesul de capacitate al spermatozoizilor.

Matricea extracelulară la nivelul tractului reproducător este de două tipuri: matricea intersticială și membrana bazală. Matricea intersticială constă din tipurile de colagen I, II, III, V și XI, din GAG, proteoglicani și fibronectină. Membrana bazală este compusă din colagen tip IV, laminină, entactină și proteoglicani de tip heparan sulfat (2).

Până în prezent s-a realizat mai ales identificarea și dozarea biochimică a GAG la nivelul tractului reproducător femel.

Scopul prezentei lucrări a fost evidențierea, prin microscopie optică și electronică, a GAG din diferite segmente ale tractului reproducător femel de suine, utilizând o metodă de colorare specifică, cu roșu de ruteniu.

MATERIALE ȘI METODE

Tracturile reproducătoare femele de suine au fost procurate de la Abatorul București. Din tracturile prelevate imediat după sacrificarea animalelor s-au izolat următoarele regiuni: porțiunea terminală a oviductului, vârful și baza coarnelor uterine, cervixul. Aceste regiuni au fost procesate în vederea analizării prin microscopie optică și electronică.

Pentru evidențierea GAG am utilizat o metodă modificată de colorare specifică cu roșu de ruteniu (*Ruthenium red* - Merck) (3).

Fragmentele de țesut au fost fixate pentru trei ore, la temperatura camerei, în soluție de glutaraldehidă 2,5 % (v/v) în tampon cacodilat de sodiu 0,1M, pH 7,4 conținând 0,3% roșu de ruteniu. Probele au fost spălate apoi de trei ori, câte 15 minute, în soluție de tampon cacodilat de sodiu 0,1M, pH 7,4.

Jumătate din probe au fost postfixate în soluție de OsO₄ 1% (w/v) în tampon cacodilat de sodiu 0,1M, pH 7,4 conținând 0,3 % roșu de ruteniu, deshidratate și incluse în Epon în vederea analizării prin microscopie electronică (utilizând un microscop PEM-190).

Cealaltă jumătate din probe au fost procesate pentru microscopia optică (deshidratare în alcool, clarificare în toluen și includere în parafină).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Prezența GAG în mucoasa internă a tractului reproducător femel al mamiferelor a fost corelată cu rolul acestor macromolecule în procesul de capacitate a spermatozoizilor, astfel încât aceștia să poată suferi reacția acrozomală în momentul întâlnirii cu ovulul.

Tractul reproducător femel la suine este format din oviducte, uter și cervix uterin.

Oviductele funcționează ca organe de colectare și stocare a spermatozoizilor, de colectare a ovulelor, ca situs al fertilizării și al primelor diviziuni celulare embrionare. Aceste organe asigură un mediu fizic și chimic adevarat pentru capacitatea spermatozoizilor și reacția acrozomală (4). Oviductele sunt structuri pereche care se întind de la nivelul ovarului până la uter și prezintă patru regiuni: infundibul (care se deschide în cavitatea peritoneală), segmentul intermediar (ce cuprinde 2/3 din lungimea tubului), regiunea ampulară și istmul (ce se deschide în uter). Din punct de vedere structural, peretele oviductului este format dintr-o mucoasă, un strat muscular și o seroasă.

Mucoasa este foarte cutată la suine și este formată dintr-un epiteliu și un corion. Epitelul este unistratificat columnar, format din celule secretorii și ciliare. Celulele ciliare sunt mai numeroase în infundibul și mai puține la nivelul istmului.

Corionul este reprezentat de țesut conjunctiv și este separat de epiteliu printr-o membrană bazală subțire.

Coarnele uterine la suine sunt foarte dezvoltate. Mucoasa internă prezintă un epiteliu cilindric pluristratificat. În profunzimea corionului există glande tubulare simple formate din celule asemănătoare cu cele din epitelul de suprafață.

Cervixul prezintă un epiteliu gros, pluristratificat cornos.

La nivelul mucoasei interne a tuturor acestor segmente de tract reproducător femel s-au identificat și dozat biochimic cantități variabile de GAG (5). Rolul diferitelor clase de GAG (condroitin sulfat, heparină etc.) în inducerea reacției acrozomale, atât *in vivo*, cât și *in vitro* a fost deja demonstrat (6,7).

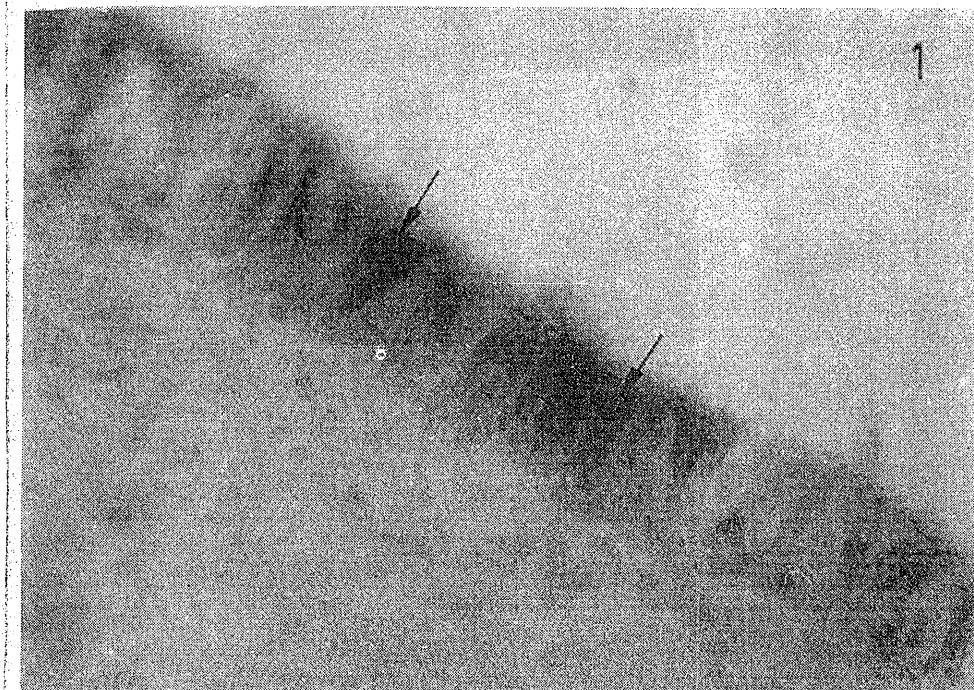


Fig.1 – Imagine de microscopie optică prin care se evidențiază prezența GAG (săgeți) în celulele secretorii ale epitelului tractului reproducător.

Pentru evidențierea GAG din diferite țesuturi prin microscopie optică și electronică s-au utilizat diferiți coloranți cationici, cum ar fi: Alcian blue, Cupromeronic sau Cuprolinic Blue (8,9). Alt colorant care a dat rezultate bune în evidențierea GAG este roșul de ruteniu (*Ruthenium red*) (3).

Noi am utilizat metoda colorării cu roșu de ruteniu pentru a demonstra și din punct de vedere histochimic prezența GAG și variația cantității acestora în mucoasa tractului reproducător femel de suine.

Această metodă de colorare a evidențiat, în microscopia optică, o reacție pozitivă în celulele secretorii ale epitelului (fig.1).

Analizând prin microscopie electronică secrețiile mucoasei tractului reproducător de suine, s-a observat că GAG prezintă o morfologie caracteristică fiecărui segment de tract.

La nivelul porțiunii terminale a oviductului am evidențiat numeroase microfibriile izolate sau grupate care nu par asociate cu GAG (fig.2). Existenza unei cantități mici de GAG (probabil de tip heparan sulfat) la nivelul oviductului de suine a fost raportată și în literatura de specialitate, variația cantității de GAG la nivelul acestui segment, ca de altfel la nivelul întregului tract reproducător fiind reglată hormonal (10).

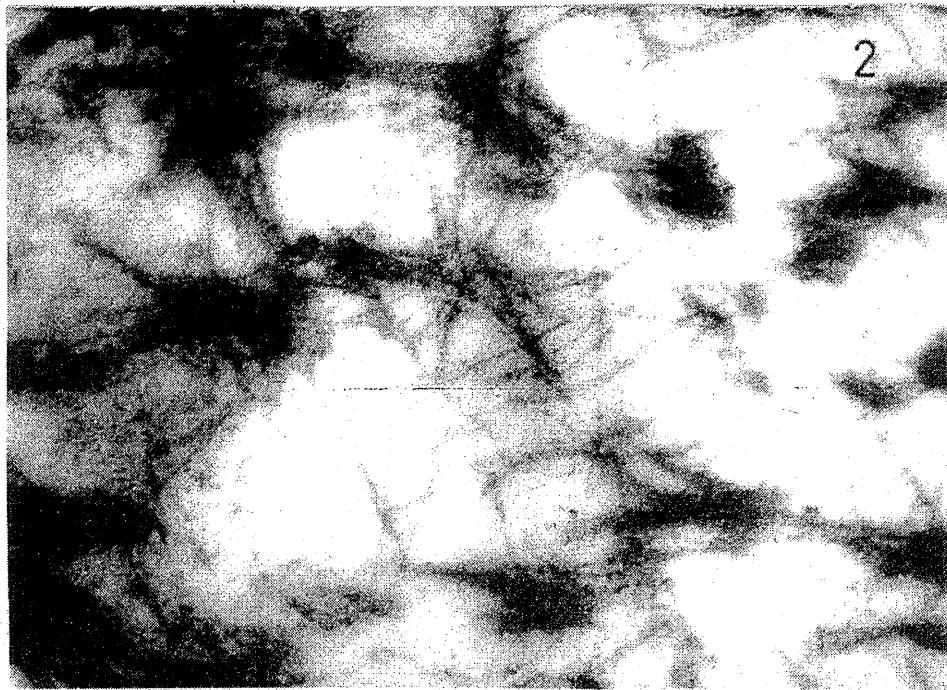


Fig. 2 – Imagine de microscopie electronică a mucoasei de la nivelul porțiunii terminale a oviductului.

Cea mai mare cantitate de GAG a fost evidențiată la nivelul coarnelor uterine. Secțiunile realizate pe fragmente izolate din secretele mucoase ale capului coarnelor uterine au evidențiat că GAG sunt fie asociati cu fibrile de colagen pe care le decorează (fig. 3A), fie sub formă de aglomerări compacte de diferite dimensiuni (fig. 3B).

Apariția GAG precipitați în prezența roșului de rutenu ca granule electronodense ce decorează suprafața fibrilelor de colagen a fost observată și în alte țesuturi, cum ar fi cartilagiu (3).

Semnalarea unei cantități mari de GAG în mucoasa coarnelor uterine se corelează cu observațiile care au relevat importanța acestor macromolecule în pregătirea acestui segment pentru nidație (11).

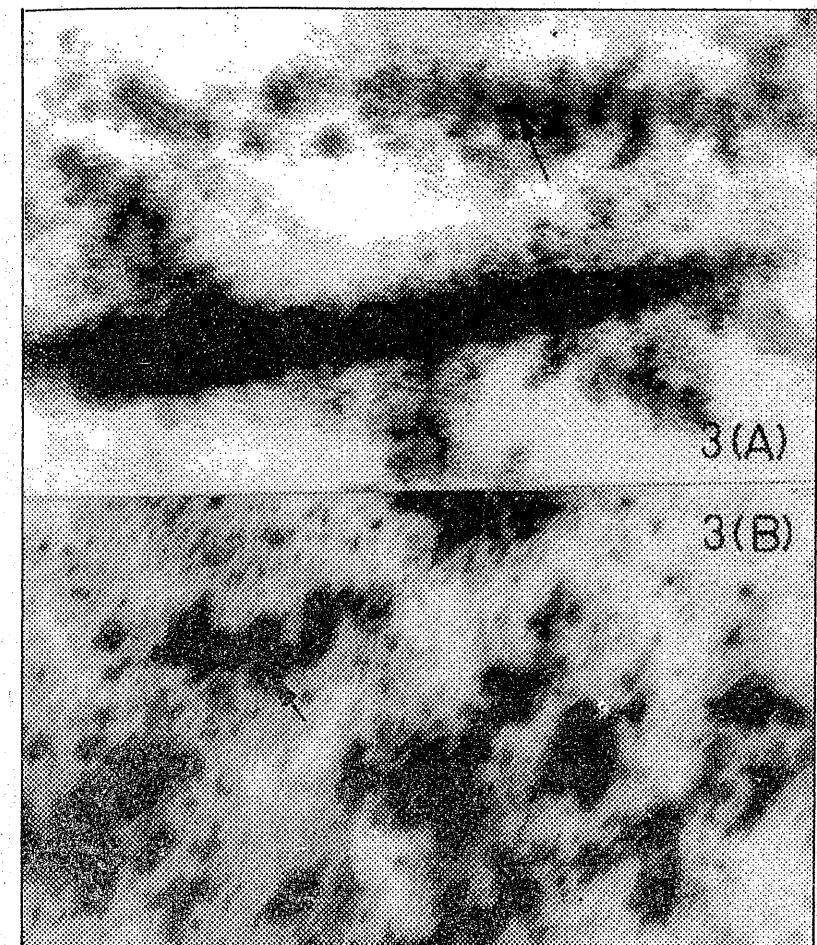


Fig. 3 – Imagine de microscopie electronică a GAG asociati cu fibrile de colagen (A) și a unor aglomerări compacte de GAG (B) la nivelul vârfului coarnelor uterine.

La baza coarnelor uterine, GAG au fost evidențiați fie în cantitate mică asociati cu fibrilele de colagen (fig. 4A), fie sub formă de aglomerări mai puțin compacte (fig. 4B).

Secretele mucoase de la nivelul cervixului se caracterizează prin prezența a numeroase fibre de colagen asociate cu o cantitate mai mică de GAG (fig. 5) și a celulelor apoptotice (fig. 6). Prezența GAG la nivelul cervixului uterin a fost demonstrată prin metode chimice (12), studii ulterioare relevând rolul GAG și a fibrelor de colagen în dilatarea cervixului (13).

Observațiile noastre privind evidențierea prin microscopie optică și electronică a GAG la nivelul segmentelor tractului reproducător femei de suine

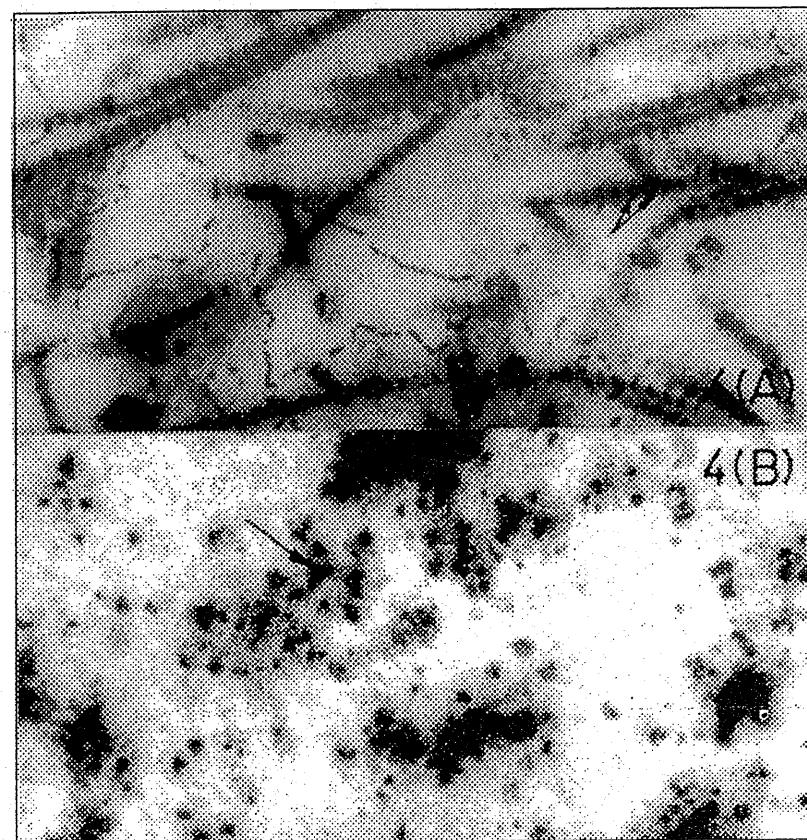


Fig. 4 – Imagine de microscopie electronică prin care se evidențiază existența unor cantități mai mici de GAG la suprafața fibrilelor de colagen (A) și a unor aglomerări de GAG mai puțin compacte (B) la nivelul bazei coarnelor uterine.

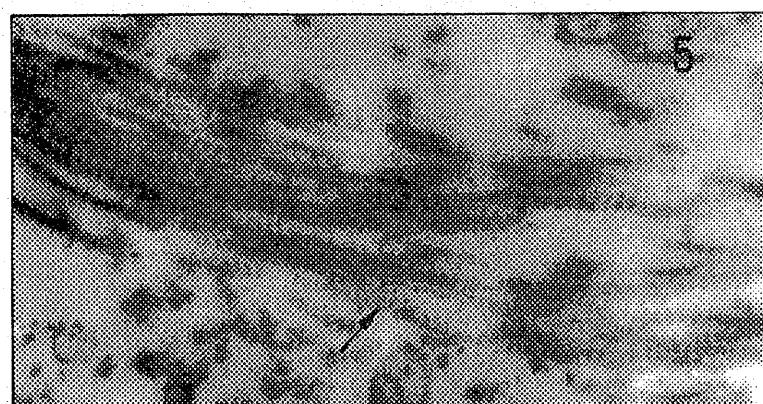


Fig. 5 – Fibre de colagen asociate cu GAG la nivelul cervixului uterin - imagine electronomicroscopică.

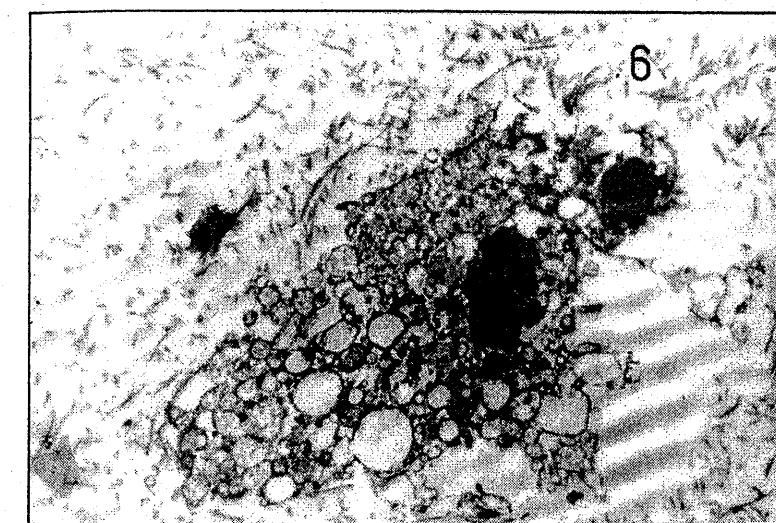


Fig. 6 – Electronomicrografie a unei celule apoptotice din mucoasa cervixului uterin.

se coreleză cu rezultatele dozărilor cantitative care au demonstrat o scădere a conținutului de GAG de la cervix spre oviducte atât la această specie (14), cât și la alte specii de mamifere (15).

BIBLIOGRAFIE

1. HARKNESS, R.D., Int. Rev. Connect. Tissue Res., **2**:155, 1964.
2. YURCHENCO, P.D., SCHITTYNY, J.C., Faseb J., **4**:1577, 1990.
3. HUNZIKER, E.B., LUDI, A., HERRMANN, W., J. Histochem. Cytochem., **40**:909, 1992.
4. SALAMONSEN, L.A., NANCARROW, C.D., Molecular Biology of the Female Reproductive System, cap. 10, p. 289, 1994.
5. LEE, C.N., AX, R.L., J. Dairy Sci., **67**:2006, 1984.
6. AX, R.L., LENZ, R.W., J. Dairy Sci., **70**:1477, 1987.
7. OANCEA, A., MOLDOVAN, L., ZĂRNEȘCU, O., Rev. Roum. Biol., **39**, 2:135, 1994.
8. SCOTT, J.E., HAIGH, M., J. Anat., **158**:95, 1988.
9. SCOTT, J.E., Inst. Phys. Conf. Ser. No. 93, vol. 3, cap. 15, 1988.
10. BUHI, W.C., BAZER, F.W., ALVAREZ, I.M., MIRANDO, M.A., Endocrinology, **128**:3086, 1991.
11. POTTER, S.W., MORRIS, J.E., The Anatomical Record, **234**:383, 1992.
12. ROBERTS, G.P., Biochem. J., **173**:941, 1978.
13. KOKENYESI, R., WOESSNER, J.F., Biochem. J., **260**:413, 1989.
14. OANCEA, A., ZĂRNEȘCU, O., MOLDOVAN, L., CALOIANU, M., St. Cerc. Biol., **45**, 2:109, 1993.
15. LEE, C.N., CLAYTON, M.K., BUSHMEYER, S.M., FIRST, N.L., AX, R.L., J. Anim. Sci., **63**:861, 1986.

Primit în redacție
la 18 septembrie 1995

* Institutul de Biologie Dezvoltării București,
Splaiul Independenței nr. 296

** Facultatea de Biologie București,
Splaiul Independenței nr. 91-95

*** Institutul de Medicină Veterinară "Pasteur",
București

EFFECTUL MERCURULUI ASUPRA HEMOCITELOR DE *Anodonta piscinalis* (NILSSON)

OTILIA ZĂRNESCU, CĂLIN TESIO

The fresh water mussel, *Anodonta piscinalis* was exposed to sublethal concentrations of mercuric chloride ($HgCl_2$) in five experimental variants. Three types of hemocytes are found in the hemolymph of normal mussel. Mussels exposed to mercury exhibited the following hemocyte response: loss of ability to spread on glass; cytosis; nuclei were pyknotic, hypertrophied, with vacuoles and deep invagination. The autometallographical silver-enhanced mercury deposits were localised in cytoplasm and nucleus of type 3 hemocytes and hypertrophic cells.

Hemocitele bivalvelor pot recunoaște, localiza, îngloba, transporta și digera particule străine, ele fiind active în procesele de fagocitoză, inflamație, formarea de capsule în jurul particulelor străine și repararea rănilor (8). Astfel, hemocitele formează prima linie de apărare a bivalvelor.

Imunitatea moluștelor bivalve se bazează pe mecanisme de apărare nespecifice mediate de hemocitele fagocitice și implică probabil câteva clase de proteine serice, diferite de imunoglobuline (17).

Mobilitatea reprezintă un factor ce guvernează aceste procese și permite celulelor să se deplaseze între diferite compartimente anatomiche, spre hrana, agentul patogen sau alte particule străine (13).

Clasificarea hemocitelor la moluștele bivalve este încă destul de controversată (3,5,8,13). Majoritatea cercetătorilor sunt însă de acord că pot fi identificate două grupuri de hemocite: agranulare și granulare (3,5,7,8).

Moluștele bivalve pot tolera concentrații mari de poluanți anorganici fără apariția semnelor de toxicitate (11). Există puține studii referitoare la modificările patologice ale hemocitelor circulante în cazul intoxicației cu diferiți poluanți organici sau anorganici. Aceste studii au urmărit influența unor metale de tipul Cu^{2+} , Cd^{2+} (6) sau fungicide (1) asupra viabilității hemocitelor și modificările ultrastructurale ale acestor celule provenite de la animale recoltate din zone poluate (18,23).

Experimentele noastre au urmărit evidențierea modificărilor patologice pe care le suferă hemocitele de *Anodonta piscinalis* în cazul intoxicației cu $HgCl_2$ la diferite concentrații și intervale de timp.

MATERIALE ȘI METODE

Exemplarele de *Anodonta piscinalis* au fost recoltate și aclimatizate la diferite intervale de timp (7 zile, 4 luni) în apă de robinet. Toate moluștele supuse experimentului au fost plasate în acvarii de sticlă cu 30 l de apă în care s-a dizolvat

$HgCl_2$ (Merck, Germania) în următoarele variante experimentale: 1. 5 și 10 $\mu g/l$ $HgCl_2$ - 18 ore; 2. 5 și 10 $\mu g/l$ $HgCl_2$ - 24 de ore; 3. 10 $\mu g/l$ $HgCl_2$ - 4 zile; 4. 5 și 10 $\mu g/l$ $HgCl_2$ - o lună; 5. 0,1 și 1 $\mu g/l$ $HgCl_2$ - 4 luni. Pe parcursul întregului experiment acvariile au fost aerate și nici un animal nu a murit în cursul tratamentului de intoxicație.

Hemolimfa a fost recoltată din mușchiul adductor posterior și din pericard cu o seringă sterilă de 1 ml. Din hemolimfa recoltată s-a depus câte 0,1 ml pe lame de sticlă curate, care au fost lăsate în repaus 20-30 min. La sfârșitul acestui interval de timp, lamele au fost fixate în metanol (5 min.) și colorate cu hematoxilină-eozină, albastru alcian și van Gieson. Pentru evidențierea mercurului s-a folosit tehnica autometalografică cu acetat de argint (12).

REZULTATE

Atunci când sunt plasate pe o suprafață de sticlă, hemocitele formează inițial grupuri de diferite dimensiuni, după care, în câteva minute celulele încep să emite pseudopode și se deplasează pe substrat (fig. 1).

În hemolimfa exemplarelor martor de *Anodonta piscinalis* am identificat trei tipuri celulare. Primele două tipuri de hemocite au capacitatea de a se întinde pe substrat (sticlă). Colorate cu hematoxilină-eozină aceste celule pot fi clasificate ca agranulocite. În colorația van Gieson, însă, apar numeroase granulații cu o dispoziție caracteristică fiecărui tip celular.

Primul tip celular (fig. 2a) reprezintă hemocitele cele mai numeroase. Aceste celule sunt fuziforme sau stelate și prezintă numeroase prelungiri prin intermediul căroră aderă unele de altele. Nucleul conține cromatină granulară, este rotund sau alungit și poate fi localizat central sau ușor excentric. Granulele citoplasmatic sunt mai abundente în jurul nucleului și mai rare în prelungiri.

Hemocitele ce aparțin celui de-al doilea tip sunt rotunde și se caracterizează prin aceea că citoplasma periferică formează prelungiri aciforme, scurte mai mult sau mai puțin uniforme (fig. 2b). Aceste hemocite sunt reduse ca număr și apar mai ales izolate. Granulele citoplasmatic sunt dispuse în apropierea nucleului și sub membrana plasmatică. Nucleul este heterocromatic, de obicei central sau ușor excentric.

Al treilea tip celular nu posedă capacitatea de a se deplasa pe substrat. Sunt cele mai mici și mai puțin numeroase hemocite. Ele prezintă un nucleu heterocromatic rotund sau alungit dispus cel mai frecvent excentric (fig. 3). Citoplasma este bazofilă fără granulații. Spre deosebire de celelalte două tipuri de hemocite la care raportul nucleu/citoplasmă este mic, cel de-al treilea tip prezintă acest raport mare.

Intoxicarea exemplarelor de *Anodonta piscinalis* cu $HgCl_2$ determină numeroase modificări morfologice asupra hemocitelor. Aceste modificări sunt dependente de doza utilizată și intervalul de timp folosit pentru intoxicație.

La 18 ore după intoxicația cu 5 $\mu g/l$ $HgCl_2$ hemocitele nu se mai pot deplasa pe substrat, astfel încât ele apar grupate (fig. 4). Multe hemocite apar citolizate (fig. 5). La același interval de timp, însă la o doză mai mare de metal

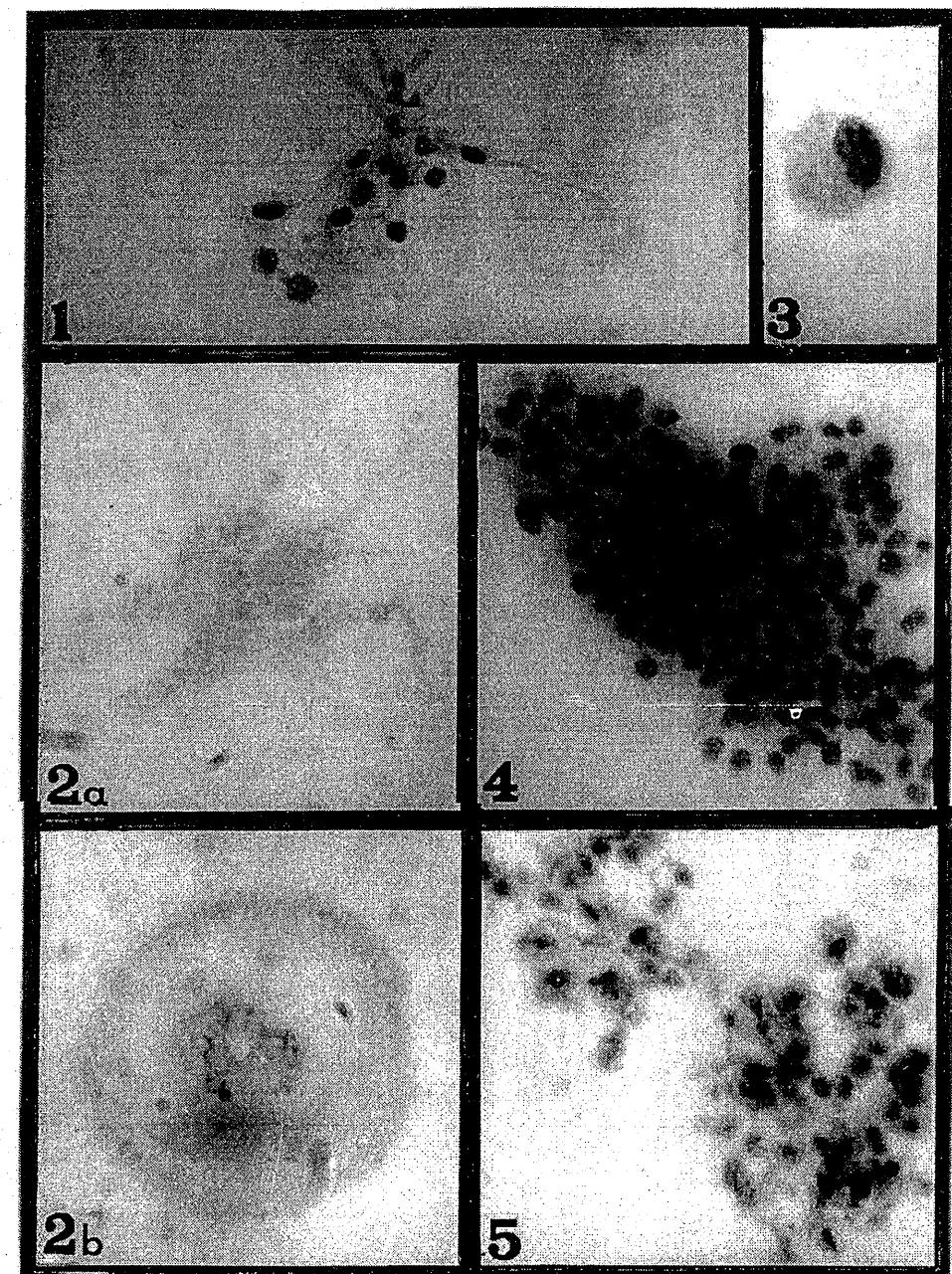


Fig.1- Hemocite martor la începutul migrării pe substrat (sticlă). Hematoxilină-Eozină.
Fig.2- a. Hemocit tip. 1. b. Hemocit tip 2. Van Gieson.

Fig.3- Hemocit tip 3. Hematoxilină-Eozină.

Fig.4- Grup de hemocite incapabile de a se deplasa pe substrat. Intoxicare 18 ore cu 5 $\mu g/l$ $HgCl_2$. Hematoxilină-Eozină.

Fig.5- Hemocite citolizate. Intoxicare cu 5 $\mu g/l$ $HgCl_2$ -18 ore. Hematoxilină-Eozină.

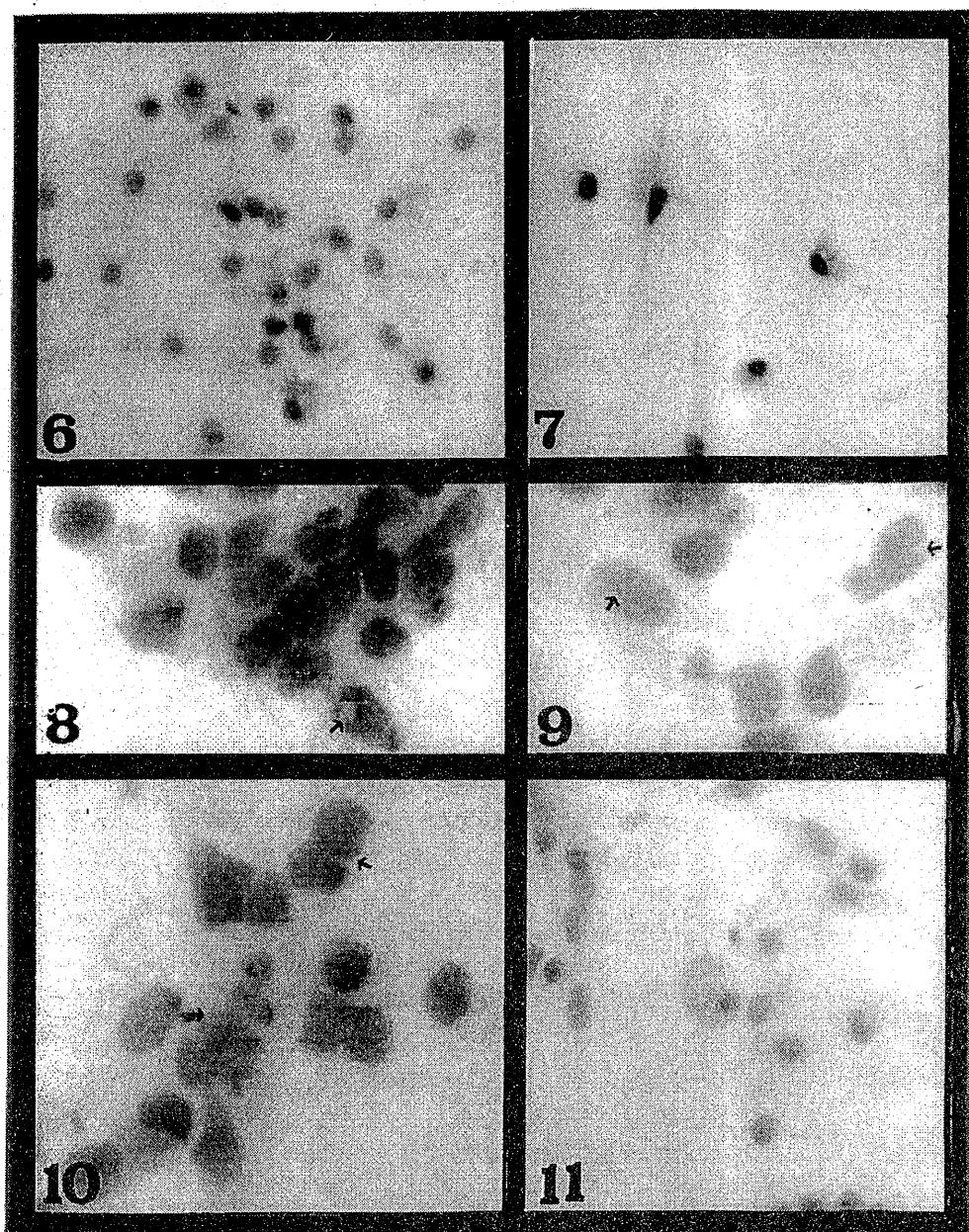


Fig. 6 - Nuclei picnotici în hemolimfa moluștelor intoxicate cu $10 \mu\text{g/l}$ HgCl_2 , 18 ore. Hematoxilină-Eozină.
 Fig. 7 - Hemocite tip 1 și 3 izolate. Intoxicare cu $5 \mu\text{g/l}$ HgCl_2 , 24 de ore. Hematoxilină-Eozină.
 Fig. 8 - Hemocite cu nuclei vacuolizați (sägeata). Intoxicare $10 \mu\text{g/l}$ HgCl_2 , 24 de ore. Hematoxilină-Eozină.
 Fig. 9 - Hemocite cu nuclei incizați (sägeata). Intoxicare cu $5 \mu\text{g/l}$ HgCl_2 , 24 de ore. Hematoxilină-Eozină.
 Fig. 10 - Hemocite cu nuclei hipertrofiati sau fuzionați (sägeata). Intoxicare cu $5 \mu\text{g/l}$ HgCl_2 , o lună.
 Hematoxilină-Eozină.
 Fig. 11 - Celulă hipertrofiată (sägeata). Intoxicare cu $10 \mu\text{g/l}$ HgCl_2 , o lună. Hematoxilină-Eozină.

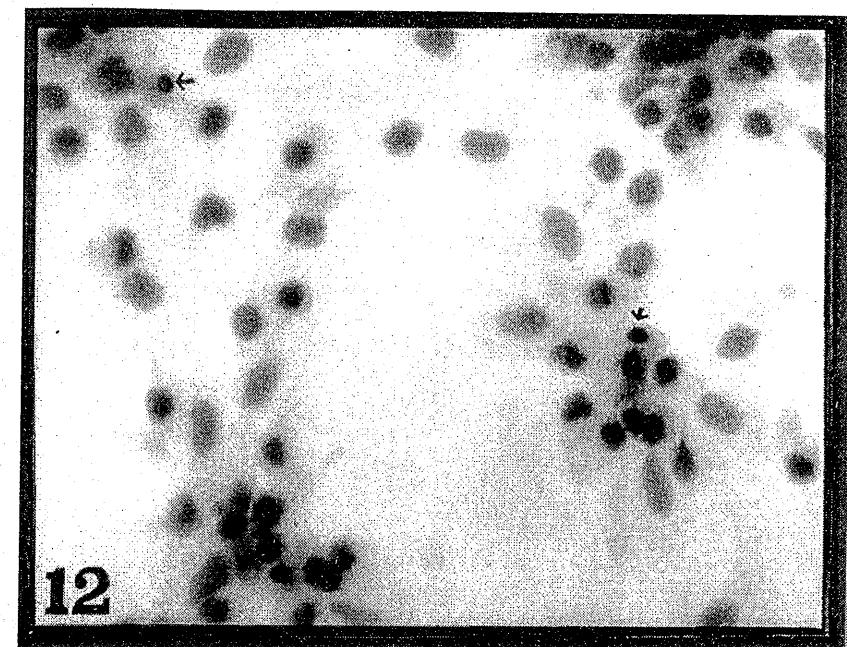


Fig. 12- În hemolimfa moluștelor intoxicate cu $1 \mu\text{g/l}$ HgCl_2 , se remarcă un comportament de migrare normal al hemocitelor tip 1. Nuclei picnotici (sägeata).
 Hematoxilină-eozină.

($10 \mu\text{g/l}$ HgCl_2) în hemolimfă apar numai nuclei picnotici (fig. 6). În general, la ambele concentrații se constată o reducere masivă a hemocitelor circulante.

La 24 de ore, intoxicarea cu 5 și $10 \mu\text{g/l}$ HgCl_2 produce modificări similare variantei experimentale anterioare (hemocite citolizate). În plus, la acest interval de timp unele hemocite încep să migreze din grupurile compacte. Există puține hemocite izolate ce aparțin primului tip (fig. 7). În această variantă experimentală apar și modificări nucleare de tipul vacuolizării (fig. 8) și incizării nucleului (fig. 9).

La patru zile de la intoxicaarea cu $10 \mu\text{g/l}$ HgCl_2 , hemocitele apar mai ales grupate. Cele mai numeroase sunt cele ce aparțin tipului 3.

În a patra variantă experimentală (intoxicare cu 5 și $10 \mu\text{g/l}$ HgCl_2 - o lună) există diferențe individuale în privința modificărilor morfolologice. La unele exemplare există grupuri de hemocite distruse, în timp ce la altele sunt prezente multe hemocite din primul tip întinse pe substrat. Nucleii hemocitelor sunt fie picnotici (tipul 3), fie prezintă vacuole (tipul 1). Un aspect caracteristic acestei variante experimentale este hipertrofiera sau fuziunea nucleelor (fig. 10). De asemenea, apar în hemolimfă celule hipertrofiate izolate care se caracterizează printr-un nucleu excentric mic și o citoplasmă acidofilă bogată (fig. 11).

În ultima variantă experimentală ($0,1$ și $1 \mu\text{g/l}$ HgCl_2 - patru luni), hemocitele primului tip prezintă un comportament de migrare normal (fig. 12). Modificările



Fig.13- Evidențierea mercurului prin tehnica autometalografică în citoplasma (sägeata) și nucleii hemocitelor (sägeata dublă). Intoxicare cu $0,1 \mu\text{g/l HgCl}_2$ - 4 luni.

patologice asociate acestei variante au fost reprezentate de picnoza, incizarea, vacuolizarea nucleilor și apariția de celule hipertrofiate.

Prin tehnica autometalografică, mercurul a fost pus în evidență în toate variantele experimentale în granulele citoplasmatiche localizate în hemocitele tipului 3 și celulele hipertrofiate, precum și în nucleii acestor celule (fig. 13).

DISCUȚII

Deși există multe studii privitoare la clasificarea hemocitelor de bivalve, majoritatea lor sunt restrânse la câteva genuri și specii.

La *Crassostrea virginica* (12,13) au fost identificate două grupe mari de hemocite: agranulocite și granulocite. Agranulocitele care pot fi la rândul lor limfoide și nelimfoide nu prezintă granule sau au foarte puține și nucleul este înconjurat de o cantitate mare de citoplasmă. Excepție fac agranulocitele limfoide în care raportul nucleu/citoplasmă a fost mai mare. Granulocitele au fost clasificate pe baza mărimei granulelor și a afinității față de coloranți în: bazofile și eozinofile. La *Mercenaria mercenaria* în funcție de mărimea celulelor, numărul de granule citoplasmatiche și capacitatea de a se deplasa pe substrat au fost identificate trei categorii de hemocite: agranulocite, granulocite mici și granulocite mari (15). În microscopia electronică la *Mytilus edulis* (14) și *Mya arenaria* (23) au fost identificate două tipuri de hemocite: granulocite și agranulocite.

Primul tip de hemocite descris de noi la *Anodonta piscinalis* corespunde agranulocitelor aplatizate neregulate (13) sau hemocitelor parțial granulare (10) de la *Crassostrea virginica* și fibrocitelor (9) de la *Mercenaria mercenaria*. Cel de-al doilea tip de hemocit a mai fost observat la *C. virginica* și denumit agranulocit aplatizat rotund (13) sau hematocit granular (10). La *M. mercenaria* acest tip a fost descris ca hialinocit (9). Cel de-al treilea tip corespunde agranulocitelor limfoide de la *C. virginica* (13).

Observațiile noastre asupra hemocitelor provenite de la moluște intoxicate cu HgCl_2 au evidențiat o gamă largă de modificări patologice reprezentate de: pierderea capacității de a se deplasa pe substrat, citoliză, picnoza, vacuolizarea și incizarea nucleului, apariția de celule hipertrofiate și prezența de granulații mercurice în citoplasmă.

Reducerea numărului de hemocite circulante la 18 ore de la toxicarea cu HgCl_2 , observată de noi la *Anodonta piscinalis* a mai fost evidențiată și de Alvarez și colab., (1) care au demonstrat că expunerea hemolimfei, 10 min., *in vitro*, la un fungicid determină moartea a peste 50% din celule.

Incapacitatea hemocitelor bolnave de a se deplasa pe substrat a fost descrisă și la *Mya arenaria* (16) la care s-a evidențiat că există diferențe semnificative în arhitectura citoscheletului existent în hemocitele normale și cele bolnave. Aceste diferențe includ cantitatea de actină existentă în celule, prezența și organizarea benzilor de actină și numărul de contacte focale. Aceste diferențe citoscheletice determină incapacitatea acestor celule de a realiza contacte celulare, de a adera și de a se împrăștia pe substrat sau de a extinde filopodii.

Observațiile noastre au evidențiat că mercurul induce o serie de alterări nucleare de tipul: picnozei, vacuolizării, incizării și hipertrofierii sau fuziunii nucleilor. Modificări nucleare de tipul fragmentării au fost observate la *C. gigas* și *C. virginica* în prezență de zinc și cupru (20,21). Formarea de celule multinucleate, determinată de expunerea la poluanți sau agenți patogeni, a fost observată la *M. mercenaria* (2). Aceste celule au însă o morfologie diferită de cea observată de noi la *Anodonta piscinalis*.

Hipertrofierea celulelor a fost observată în cazul granulocitelor de la bivalve intoxicate cu zinc (21) și cupru (21,23) care răspund la toxicare prin umflare.

În legătură cu creșterea numărului de hemocite bazofile (tipul 3) observată și de noi în cazul toxicării pe termen lung s-a presupus (23) că bivalvele răspund la contactul prelungit cu poluantul prin creșterea numărului de granulocite ce sunt implicate în îndepărțarea materialului străin. S-a evidențiat că speciile de *Ostrea edulis* și *C. gigas* colectate din zone metalifere conțin mai multe tipuri de granulocite

ce înglobează metale de tipul cuprului și zincului și le stochează în vezicule delimitate de membrane (18). În hemolimfa stridiilor, în condiții de stres și poluare, a fost evidențiat un număr mare de granulații bazofile (7,21). Aceste granulații corespund lizozomilor. Lizozomii din granulocitele bazofile sunt implicați în îndepărțarea poluanților metalici (18). Se presupune că eliminarea poluanților poate avea loc pe două căi: hemocitele se deplasează la rinichi sau alte celule epiteliale pentru a elimina poluanții la exterior sau hemocitele traversează epiteliale și fie își varsă conținutul la exterior după care se reîntorc în hemolimfă, fie sunt îndepărtați definitiv. Dovezile experimentale susțin ambele procese. Astfel, granulocitele de *M. mercenaria* sunt capabile să se „degranuleze” prin eliberarea activă a lizozomilor (23). De asemenea, au fost evidențiate deplasări transepiteliale ale hemocitelor ce au înglobat coloranți (22).

BIBLIOGRAFIE

1. ALVAREZ M.R., FRIEDL F.E., HUDSON C.M., J. Invertebr. Pathol., **57**:395-401, 1991.
2. ANDERSON R.S., Biol. Bull., **172**:236-245, 1987.
3. AUFFRET M., În: Disease processes in marine bivalve molluscs. (W.S. Fisher, Ed.), vol. 18, pp. 169-177. American Fish Soc., Bethesda, 1988.
4. CHENEY D.P., Biol. Bull., **140**:353-368, 1971.
5. CHENG T.C., Ann. N.Y. Acad. Sci., **266**:343-379, 1975.
6. CHENG T.C., J. Invertebr. Pathol., **51**:207-214, 1988.
7. FENG S.Y., FENG J.S., BURKE C.N., KHAIRALLAH L.H., Z. Zellforsch., **120**:222-245, 1971.
8. FISHER W.S., În: Immunity of Invertebrates (M. Brehelin, Ed.), pp. 25-35, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 1986.
9. FOLEY D.A., CHENG T.C., Biol. Bull., **146**:343-356, 1974.
10. FORD S.E., ASHTON-ALCOX K.A., KANALEY S.A., J. Invertebr. Pathol., **64**:114-122, 1994.
11. GEORGE S.G., Thalass. Jugo., **16**:347-365, 1980.
12. HACKER G.W., GRIMELIUS L., DANSCHER G., BERNATZKY G., MUSS W., THURNER A.H., J. Histotechnol., **11**:213-221, 1988.
13. MCCORMICK-RAY M.G., HOWARD T., J. Invertebr. Pathol., **58**:219-230, 1991.
14. MIX M.C., HAWKES J.W., SPARKS A.K., J. Invertebr. Pathol., **34**:41-56, 1979.
15. MOORE C.A., EBLE A.F., Biol. Bull., **152**:105-119, 1977.
16. MOORE C.A., BECKMANN N., MORSE M.P., 1992, J. Invertebr. Pathol., **60**:141-147, 1992.
17. PAL S.G., CAJARAVILLE M.P., Proc. Int. Conf. Bordeaux Aquaculture, 1994.
18. PIRIE B.J.S., GEORGE S.G., LYTTON D.G., THOMSON J.D., J. mar. biol. Ass U.K., **64**:115-123, 1984.
19. RUDDELL C.L., A Cytological and Histochemical Study of wound repair in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, Ph. D. Thesis, University of Washington, Seattle, 1969.
20. RUDDELL C.L., Histochemie, **26**:98-112, 1971.
21. RUDDELL C.L., RAINS D.W., Comp. Biochem. Physiol. Ser. A., **51**:585-591, 1975.
22. RUDDELL C.L., DUNLAP T., OKAZAKI R.K., MUNN R., J. Invertebr. Pathol., **31**:313-323, 1978.
23. SEILER G.R., MORSE M.P., J. Invertebr. Pathol., **52**:201-214, 1988.

Primit în redacție
la 14 septembrie 1995

Facultatea de Biologie
București, Splaiul Independenței nr.91-95

MODIFICĂRI HISTOLOGICE ȘI HISTOCHEMICE INDUSE DE METILCLOROFORM LA NIVELUL FICATULUI DE ȘOBOLAN. EFECTELE HEPATOPROTECTOARE ALE FOLCISTEINEI-U

VICTORIA-DOINA SANDU, CRISTINA PAȘCA, ADINA COSTEA, KIS ERIKA

Methylchloroform, a substance used in the chemical industry, but having general anesthetic properties, administered by gavage directly into the stomach of adult female Wistar rats, in a unique dose of 0.15 g per kg body weight, has some toxic effects upon the liver. These were: histopathological modifications at the level of the liver, lipid accumulation and alterations in some hepatic enzyme activities in the mitochondria (a slight decrease of CyOx and SDH activities). This might have a negative impact upon the hepatic function. Folcysteine-U administration determined a recovery effect upon the structural and functional integrity of the liver intoxicated with methylchloroform.

METILCLOROFORMUL ($CCl_3\text{-}CH_3$), substanță volatilă înrudită cu cloroformul, utilizat ca solvent industrial, este unul dintre numeroși factori poluanți cu potențial vătămător asupra organismelor, uman și animal. S-a constatat că metilcloroformul are și proprietăți anestezice generale, cu repercusiuni negative asupra stării de sănătate a muncitorilor care-l manipulează.

Deoarece efectele sale la nivel tisular și celular nu au fost studiate până în prezent, investigațiile noastre au vizat următoarele obiective: 1. Stabilirea efectelor histologice și histochimice ale metilcloroformului la nivelul ficatului de șobolan - organ principal de bioactivare și metabolizare a xenobioticelor și organ „target” pentru acestea (4,5); 2. Urmărirea refacerii naturale a ficatului intoxicații și a refacerii lui sub influența preparatului românesc netoxic FOLCISTEINA-U.

MATERIAL ȘI METODE

Cercetările s-au efectuat pe următoarele 4 loturi de șobolani adulți Wistar, femele (4,5 luni, în greutate de 160-170 g), întreținute în condiții de laborator și infometate timp de 18 ore înaintea tratamentului, având însă apă *ad libitum*:

1. Lotul „M” -martor;
2. Lotul „Me₁” -tratat cu doza unică de 0,15 g metilcloroform /Kg corp, administrată prin gavaj direct în stomac printr-o sondă de cauciuc. Animalele din acest lot au fost sacrificiate după 24 de ore de la administrarea substanței;
3. Lotul „Me₂” tratat similar lotului „Me₁”, dar sacrificat după 96 ore de la administrarea metilcloroformului ;

St. cerc. biol., Seria biol. anim., t.48, nr. 1, p. 39-44, București, 1996

4. Lotul „Me₂ + F” - tratat similar lotului „Me₁”, căruia i s-a administrat, prin injecții intramusculare, timp de 3 zile consecutiv, câte o doză zilnică de 0,2 ml Folcisteină-U/ 100g greutate corporală; prima doză de Folcisteină-U (fiole a 5 ml -produs al Întreprinderii de Medicamente, București) s-a dat imediat după administrarea de metilcloroform. Animalele au fost sacrificiate o dată cu cele din lotul „Me₁”, deci după 96 ore de la tratamentul cu metilcloroform și cu prima doză de Folcisteină-U.

La sacrificarea tuturor animalelor s-au recoltat alături de sânge și diferite organe, fragmente de ficat. O parte din aceste fragmente au fost fixate în lichidul Bouin, incluse la parafină, secționate la microtom și colorate cu hematoxilin-eozină, în vederea studiului histologic; alte fragmente au fost congelate rapid în azot lichid și secționate la un criotom tip SLEE. Pe astfel de secțiuni (10 μ) am efectuat prin tehnici uzuale (10), reacțiile pentru evidențierea lipidelor sudanofile, precum și a activității enzimelor mitocondriale: citocromoxidaza (CyOx) și succinidehidrogenaza (SDH).

REZULTATE

Aspectul macroscopic al ficiatului la animalele din lotul „Me₁” este modificat față de cel de la animalele de control, prin apariția unor pete albicioase și a unei consistențe mai rigide. La lotul „Me₂”, atât suprafețele albicioase, cât și rigiditatea sunt mai reduse decât la martori. La lotul „Me₂ + F”, aspectul macroscopic al ficiatului este asemănător cu cel de la martori.

Examenul histologic al secțiunilor de ficat la loturile tratate relevă următoarele modificări față de martori (fig.1): la lotul „Me₁” se evidențiază necroze focale punctiforme, celule cu aspect de intumescență clară și chiar balonizarea unor hepatocite, precum și dilatări ale unor sinusoide și spații porte (fig.2); la lotul „Me₂” leziunile histologice sunt mult atenuate față de cele de la lotul precedent, remarcându-se doar rare celule balonizate și sinusoide dilatate (fig.3); la lotul „Me₂ + F” imaginea histologică a secțiunilor de ficat este foarte apropiată de cea de la animalele de control (fig.4).

Rezultatele studiului histochemical al secțiunilor de ficat colorate cu Sudan negru, evidențiază la loturile tratate, modificări ale conținutului de lipide sudanofile comparativ cu martorii. Astfel: la lotul „Me₁” crește cantitatea de lipide, ceea ce duce la instalarea unei steatoze reduse, de tip mixt micro- și macrovezicular; la lotul „Me₂” nivelul lipidelor depășește pe cel al martorilor, dar este mai redus decât cel de la lotul „Me₁”; la lotul „Me₂ + F” conținutul de lipide este apropiat de cel înregistrat la animalele din lotul „M”.

Studiul histoenzimologic al secțiunilor de ficat la animalele de control ne-a permis, în primul rând observarea unei reacții mai intense a CyOx față de SDH, iar în al doilea rând distribuția zonată, mozaicată a reacțiilor ambelor enzime -zonele cu activitate intensă fiind situate periportal. La loturile tratate, reacțiile acestor enzime mitocondriale se modifică față de martori (fig.5), în același sens: la lotul „Me₁” reacțiile de CyOx și SDH (fig.6) scad evident comparativ cu martorii, atât în zonele cu activitate slabă, cât mai ales în cele cu activitatea mai intensă, având

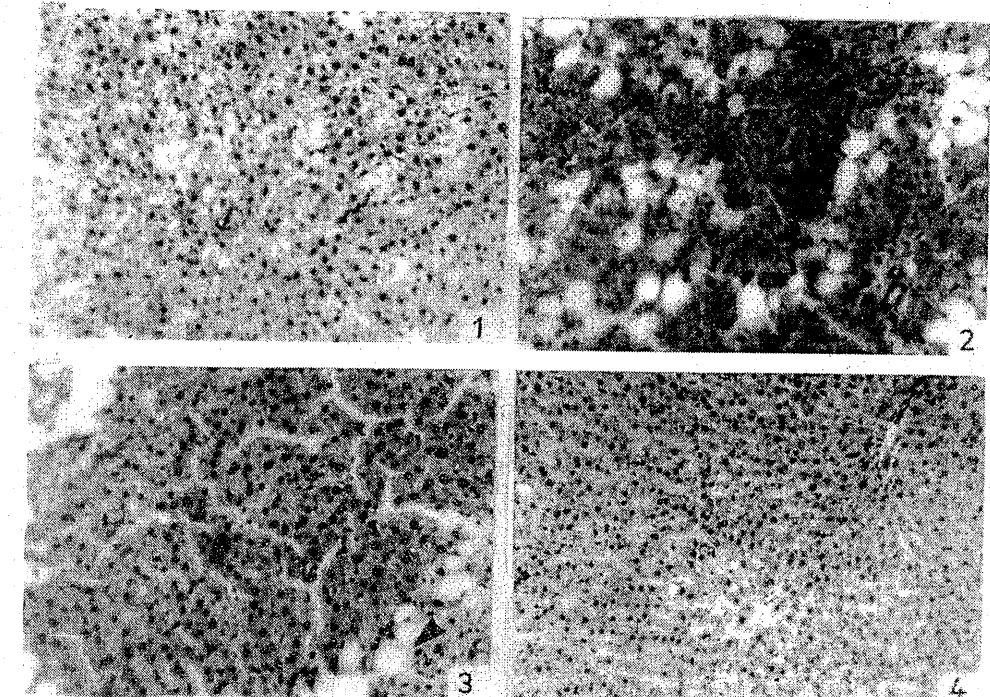


Fig. 1,2,3,4 – Aspectul histologic al ficiatului la animalele din loturile: „M” (fig. 1), „Me₁” (fig. 2), „Me₂” (fig. 3) și „Me₂+F” (fig. 4)

ca rezultat atenuarea zonăției; la lotul „Me₂” (fig.7) reacțiile ambelor enzime sunt mai intense decât la lotul „Me₁”, dar mai reduse decât la lotul „M”; la lotul „Me₂+F”, reacțiile CyOx și SDH (fig.8) sunt la un nivel similar sau foarte apropiat de cel de la animalele de control.

DISCUȚII

Rezultatele studiului nostru, obținute printr-un model experimental original, relevă faptul că, Metilcloroformul afectează ficiatul atât structural, cât și funcțional, aspect care, după cunoștințele noastre, nu a mai fost semnalat în literatura de specialitate.

Rigiditatea crescută, petele albe-observate macroscopic la nivelul ficiatului animalelor din lotul Me₁, precum și modificările histologice manifestate prin: necroze, procese de steatoză, balonizarea unor hepatocite, dilatari de sinusoide și spații porte, evidențiază elocvent lezarea ficiatului de către Metilcloroform la numai 24 ore de la administrare. De asemenea, deregarea homeostaziei enzimatice prin reducerea intensității reacțiilor CyOx și SDH determină „lezuni metabolice” ce sugerează inhibarea proceselor energogene aerobe și repercusiunile negative asupra funcționalității normale a ficiatului.

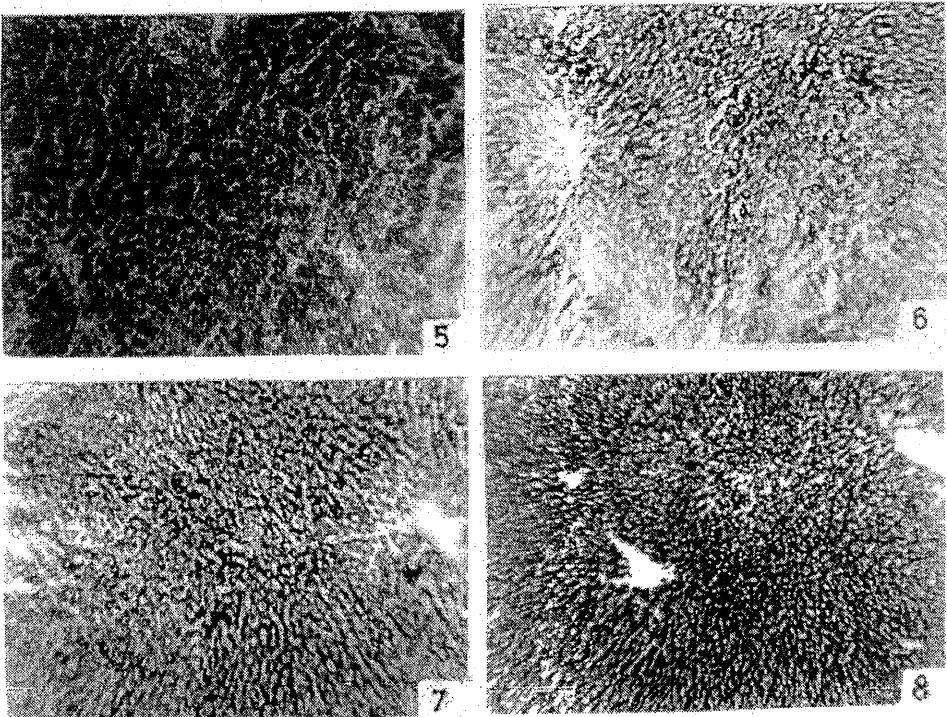


Fig. 5,6,7,8 – Aspectul reacției SDH în ficatul animalelor din loturile: „M” (fig. 5), „Me₁” (fig. 6), „Me₂” (fig. 7) și „Me₂+ F” (fig. 8)

Sensibilitatea maximă față de metilcloroform pare să o prezinte hepatocitele, iar dintre organitele celulare, mitocondriile. Afectarea mitocondriilor poate determina tulburări în oxidările dependente de piridinnucleotide, necuplarea fosforilării oxidative, transformarea proprietăților ATP-azei (17,18).

Modificări histopatologice hepatică similare celor produse de Metilcloroform în condițiile experimentului nostru, dar mult mai accentuate au fost înregistrate de alți autori în cazul tratamentului acut cu Dimetilnitrozamină (DMNA), alcool etilic, alcool alilic, tetrachlorură de carbon, ciclofosfamidă (2,3,6,9,13,14,15,16)-substanțe puternic hepatotoxică. Aceste hepatotoxică, dar în special DMNA, au provocat chiar ciroză hepatică bine constituită (13), cu modificări mitochondriale și nucleare, iar tratamentele cronice au dus la instalarea unui proces oncogen (8). Multe dintre xenobioticele menționate sunt toxice sau devin toxice în organism ca urmare a proceselor de bioactivare din ficat. Transportul xenobioticelor din sânge în hepatocite și de aici în bilă este o formă de transport vectorial, mediat de diferite proteine de transport și transfer, care diferă prin specificitatea ligantului și prin funcție (7). Aceleași proteine sunt responsabile atât de transportul activ al endobioticelor, cât și al xenobioticelor (1,19).

Amplitudinea mai mică a modificărilor hepatică induse de metilcloroform, comparativ cu cele induse de toxicele amintite mai sus, ne îndreptățește să-l considerăm o substanță cu hepatotoxicitate moderată (mijlocie).

Mecanismul de acțiune al metilcloroformului poate fi direct și/sau indirect, dar în lumina interpretării moderne se consideră că în ambele cazuri toxicele afectează preferențial biomembranele (11,17). De aceea, pentru o hepatoterapie eficace este necesară refacerea structurii biomembranelor, fie natural, fie sub influența stimulării regenerării acesteia de către unele produse medicamentoase.

Faptul că la animalele tratate cu metilcloroform și sacrificiate după 96 ore (lot „Me₂”) a avut loc o atenuare vizibilă a tuturor modificărilor provocate de toxic, constituie un indiciu al procesului de „refacere” în mod natural și în timp a ficutului afectat, marea capacitate regenerativă a ficutului fiind de altfel bine cunoscută (12).

La animalele intoxicate cu metilcloroform și tratate cu Folcisteina-U (lot „Me₂+ F”), aspectul macroscopic, histologic, histochemical și histoenzimologic al ficutului este cvasinormal, fiind aproape identic cu cel al animalelor de control. Restabilirea integrității structurale și funcționale a ficutului lezat, sub influența Folcisteinei-U, sugerează rolul său hepatoprotector și de stimulare a proceselor de regenerare, efecte datorate în bună parte grupărilor „SH” pe care le donează.

Grupările „SH” au efect necrotrop prin intervenția lor reglatoare în procesele metabolice din sistemul enzimatic SH-SS. Gruparea „SH” este ancorată în glutathionul ficutului. Substanțele toxice ca: tetrachlorura de carbon, alcoolul alilic, derivații clorurați de metan-deci și metilcloroformul, reduc glutathionul și o dată eu el și conținutul de grupări „SH” din ficut. Deficitul de grupări „SH” poate duce la necroza hepatică, datorită retardării reacțiilor controlate prin enzime SH, ce duc astfel la afectarea metabolismului energetic al celulei, care nu mai poate face față funcțiilor specifice și prezervării structurilor vitale, ceea ce are drept consecință degenerarea și apariția de leziuni (18).

În concluzie, considerăm că studiul nostru aduce o modestă contribuție la lărgirea sferei de cunoaștere a reactivității ficutului la acțiunea unor substanțe toxice mai puțin investigate și la evidențierea acțiunii benefice, hepatoprotectoare a preparatului românesc netoxic, Folcisteina-U.

BIBLIOGRAFIE

- ARIAS I.M., CHE M., GATMAITAN Z., LEVEILLE C., NISHIDA T., PIERRE M.S.T., Hepatology, 17:318, 1993.
- BOYD M.R., C.R.C., Critical Reviews in Toxicology, 2:103-125, 1980.
- DAVID A., FRANTIK E., HOLUSA R., NOVADOVA O., Int. Arch. Occup. Environ Health, 48:49-60, 1981.
- DEKKER M., Toxic injury of the liver (in two parts), Ed. Farber-Fischer, Inc New-York, Basel, 1980.
- JONES L.A., SPRING-MILLIS B., The liver and gallbladder in Histology cell and tissue biology, Ved. L. Weisled Elsevier Biomedical New York, Amsterdam, Oxford.
- KOPPANG N., IARC, Sci. Publ., 31:779-785, 1980.
- Le BLANC G.A., Chem-Biol. Interact., 90:101-120, 1994.
- LIJINSKY W., GREENBLATT M., Nature New Biol., 236:177-178, 1972.
- MIRVISH S.S., Ann. N.Y. Acad. Sci., 258,10:175-180, 1975.

10. MUREŞAN E., GABOREANUM M., BOGDAN A.T., BABA A.I., Tehnici de histologie normală și patologică, Edit. Ceres, București, 1976.
11. POPPER H., BIANCHI L., REUTTER W., Falc. Symp., 22, MTP, Lancaster, 1977.
12. PREDA V., CRĂCIUN C., Regenerarea țesuturilor și organelor la vertebrate, Edit. Academiei RSR., București, 1976.
13. RUSU M.A., BUCUR N., TAMAS M., Acta Phytoterapica Romanica, 51-59, 1994.
14. RUSU M.A., PREDA N., CRĂCIUN C., GADALEANU V., BUCUR N., IARC, Sci. Publ., 31:804-812, 1980.
15. RUSU M.A., BUCUR N., TAMAS M., în vol. "Realizări și perspective în cercetarea biochimică", 99-102, Edit. Academiei Române, 1992.
16. SANDU V.D., ABRAHAM A.D., St. cerc., seria Biol. Anim., 44, 2:139-142, 1992.
17. TIMAR M., Rolul splinei în hepatoprotecție, Edit. M.I.Ch., IPAC, București, 1982.
18. TIMAR M., Bazele terapiei raționale a ficatului, Edit. M.I.Ch., IPAC, București, 1983.
19. VORE M., Appl. Pharmacol., 118:2-7, 1993.

Primit în redacție
la 5 septembrie 1995

*Disciplina Histo-Embriologie,
Fac. de Biologie și Geologie,
Cluj-Napoca, Str. Clinicii nr. 5-7*

STUDIU EFEKTULUI HERTWIG PRODUS PRIN IRADIAREA CU ULTRAVIOLETE A SPERMATOZOIZILOR DE CRAP (*CYPRINUS CARPIO L.*)

M. DECIU

This study investigated the "Hertwig effect" which was produced with increasing exposure time durations of common carp sperm to UV-rays. The sperm donors belong to Ropșa and Japanese Fancy Carp (Nishikigoi) races while the female breeders only Nishikigoi, a white variety (Shiro-Muji). In order to give the best duration time (120 s) to inactivate genetically the sperm cells a wide range of durations of UV-exposure was surveyed (30–360 s). The survival rate of embryos shows the V-shaped pattern of the "Hertwig effect". The occurrence of the haploid syndrome and the absence of melanophores were used to check-up the efficiency of UV-irradiation.

Efectul Hertwig este un fenomen paradoxal (1), observat la spermatozoizii de broască expuși la radiații X, gamma, sau UV. Efectul constă în creșterea mortalității embrionilor proveniți din spermatozoizi iradiati proporțional cu creșterea dozei de iradiere. În aceeași măsură crește și procentul de embrioni anormali. Dupa un anumit nivel de iradiere se observă că dozele mari sunt compatibile cu obținerea unei progenituri viabile (1) (2) (5). Efectul a fost descris de Oscar și Günther Hertwig care au folosit pentru iradiere săruri radioactive (1). Ulterior s-a constatat că dozele mari de iradiere produc o inactivare genetică, prin denaturarea completă a DNA nuclear, fără a fi afectată capacitatea fecundantă a spermatozoizilor. Progenitura rezultată din spermatozoizii inactivați genetic este haploidă, având o morfologie bine conturată, descrisă în literatură ca „sindromul haploidiei” (2). Astfel, prezența haploizilor devine un test biologic de eficiență a iradierii în cadrul tehnicilor de inducere a ginogenezei la pești.

MATERIALE ȘI METODE

Reproducătorii de sex femel aparțin rasei de crap ornamental japonez (Nishikigoi), varietatea alb complet (Shiro-Muji). Această varietate se caracterizează prin absența totală a melanoforilor. Masculii provin din rasa de crap Ropșa și din varietatea Taisho-Sanke (alb cu roșu și negru) a crapului ornamental japonez. Ambele categorii se caracterizează prin prezența melanoforilor. În vederea iradierii, sperma a fost diluată, 100 µl spermă în 2,5 ml soluție salină fiziologică (7,98 g NaCl, 0,02 g NaHCO₃, la 1 litru apă distilată) (6). Soluția de spermă a fost iradiată cu ajutorul unei lămpi de ultraviolete cu vapozi de mercur produsă la Institutul Național de Metrologie din București. Spectrul de emisie al lămpii cuprinde intervalul 253–579 nm, inclusiv și lungimile de undă 260–280 nm, absorbite de acizii

nucleici. Pentru a asigura o iradiere uniformă, soluția de spermă avea în vas adâncimea de 1mm (6). Soluția de spermă era în permanență agitată pe durata iradierii. Pentru a preîntâmpina denaturarea spermei ca urmare a radiației IR reziduale emisă de lampă, soluția era răcită cu ventilatorul.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În cazul variantei experimentale, ♀ Shiro-Muji x ♂ Taisho-Sanke (UV), curba procentelor de embrionare în stadiul de neurulă este reprezentativă pentru efectul Hertwig. Dozele de iradiere corespunzătoare timpilor de iradiere de 40–60 secunde produc mortalități masive (fig. 1, tabelul nr. 1).

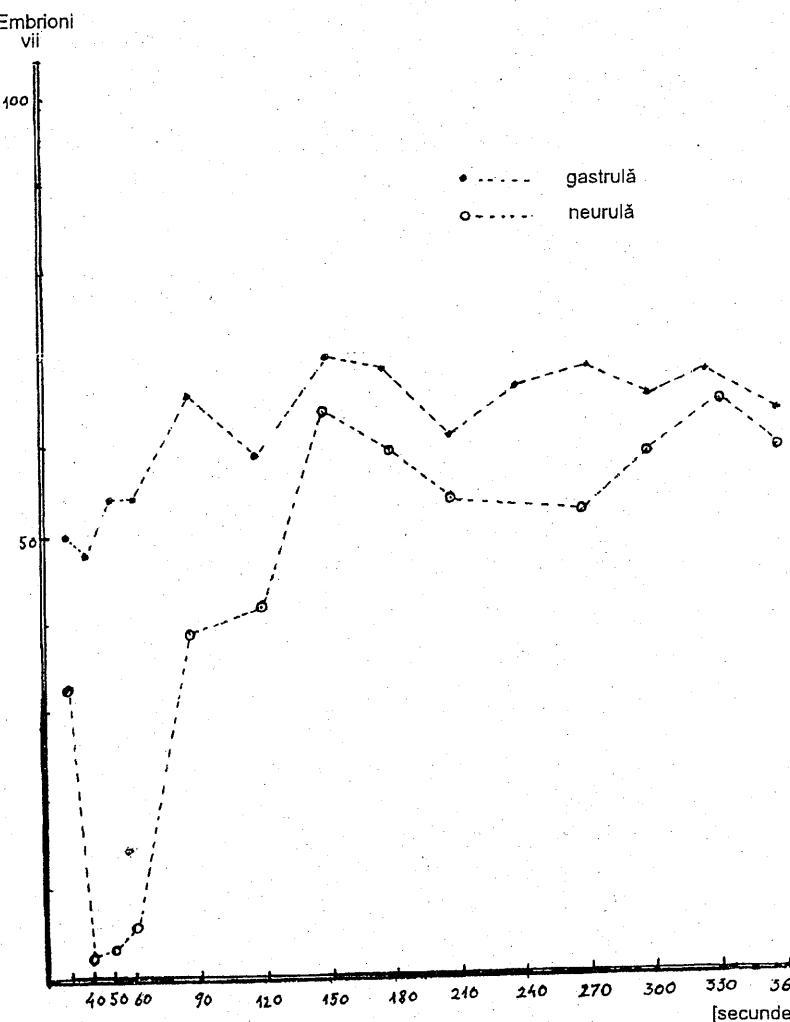


Fig. 1. – Supraviețuirea embrionilor în stadiile de gastrulă și neurulă, după iradierea cu UV a spermei.

Tabelul nr. 1
Supraviețuirea embrionilor în funcție de doza de iradiere cu ultraviolete
(♀ Shiro-Muji x ♂ Taisho-Sanke).

Expunere (secunde)	Gastrulă		Neurulă		Ochi pigmentați		Eclozare	
	Număr embrioni vii	Procent din ouă incubate	Embrioni vii	Procent din ouă incubate	Embrioni vii	Procent din ouă incubate	Larve vii	Procent din ouă incubate
30	3350	50	2177	32,5	1104	16,47	452	6,74
40	3182	47,5	167	2,5	2	1,19	2	1,19
50	3590	53,7	235	3,5	0	0	0	0
60	3597	53,7	435	6,5	51	0,76	11	0,16
90	4355	65,0	2596	38,7	28	0,43	12	0,17
120	3936	58,75	2763	41,23	46	0,69	16	0,23
150	4690	70,0	4271	63,75	69	1,02	6	0,08
180	4623	69	3852	57,5	75	1,11	27	0,4
210	4020	60	3517	52,5	57	0,85	3	0,04
240	4355	65	4271	63,7	71	1,05	4	0,05
270	3953	69	3517	52,5	68	1,01	68	1,01
300	4187	62,5	3937	58,7	72	1,07	60	0,81
330	4439	66,25	4271	63,7	88	1,31	11	0,16
360	4103	61,25	3936	58,75	58	0,86	8	0,11

Dozele crescute prin timpii de expunere mari (150–360 sec.) conduc la procente de embrionare ridicate pentru stadiul de neurulă, mortalitățile fiind foarte scăzute. Procentajele de embrionare cresc substanțial o dată cu timpul de expunere de 90 de secunde. La timpul de expunere la iradiere de 120 de secunde eficiența iradierii se plasează în domeniul de valori înalte (9,33–11,3 % embrioni haploizi, fig. 2). Eficiența iradierii a fost evaluată pe baza proporției de embrioni haploizi. Acești embrioni se deosebesc ușor prin morfologia lor aparte prezintând „sindromul haploidiei”: coadă scurtă și curbată, retină anomală (7), microcefalie, sac vitelin alungit (2) (4).

Un alt experiment de investigare a efectului Hertwig a avut ca obiect progenitura rezultată din încrucișarea ♀ Shiro-Muji x ♂ Ropșa (UV). A fost investigat un câmp mai redus de expunere la radiații (60–240 sec.), însă prezența melanoforilor la masculul de rasă Ropșa a dus la obținerea unor rezultate mult mai precise privind eficiența iradierii. Examînând procentele de supraviețuire în funcție de dozele UV administrate (fig. 3), se observă că se păstrează porțiunea ascendentă a modelului din cazul anterior (vezi fig. 1).

Acest aspect este mult mai evident pentru stadiul de ochi pigmentați. La timpul de expunere de 120 secunde, se înregistrează o creștere substanțială a numărului de embrioni prezintând sindromul haploidiei, ceea ce presupune o eficiență crescută a iradierii cu ultraviolete (fig. 4). În schimb, o dată cu creșterea dozei administrative se produce o scădere a procentului de embrioni cu melanofori (fig. 5), embrionii fără melanofori neavând material genetic de la genitorul patern de rasă Ropșa.

De la 60 de secunde la 120 de secunde de expunere, scăderea numărului de embrioni este semnificativă, de la 18,5 la 6,5 de procente.

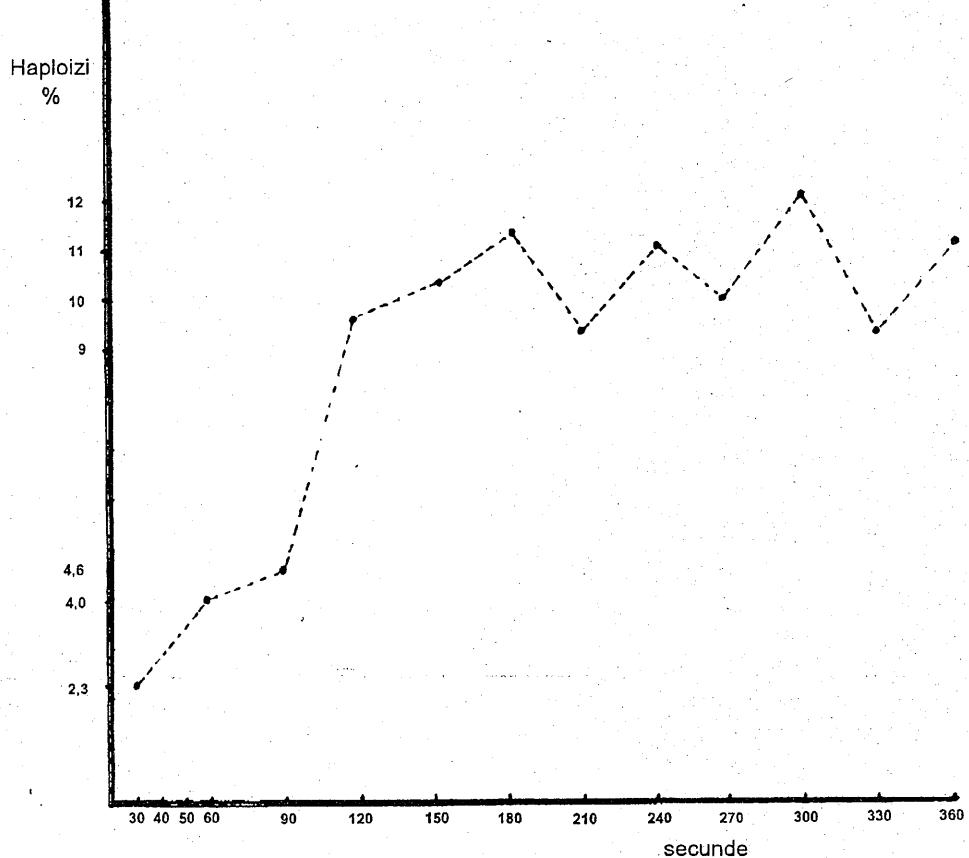


Fig. 2. – Procente de embrioni haploizi în funcție de doza de iradiere.

Rezultatele obținute concordă cu acelea obținute de Taniguchi și colab. (1986), care studiază apariția haploidiei și proporția de embrioni cu melanofori la crapul ornamental japonez în vederea realizării unei progenituri ginogenetice. S-au obținut aceleași profile privind embrionii haploizi și absența melanoforilor. Aceeași situație s-a remarcat în cazul ratei de supraviețuire la stadiul de embrioni cu ochi.

În privința nivelului energetic al dozelor utilizate se poate estima un nivel scăzut, având în vedere că efectul Hertwig devine observabil numai la energii de iradiere joase. Ijiri și Egami (1980), Komen și colab. (1988) apreciază că numai dozele foarte joase de iradiere, sub 50 J/m^2 , pot pune în evidență efectul Hertwig.

CONCLUZII

- Coroborând datele privind supraviețuirea embrionilor cu acelea privind apariția haploidiei și prezența melanoforilor rezultă că la dozele de expunere de 40 și 50 secunde, mortalitățile sunt maxime.

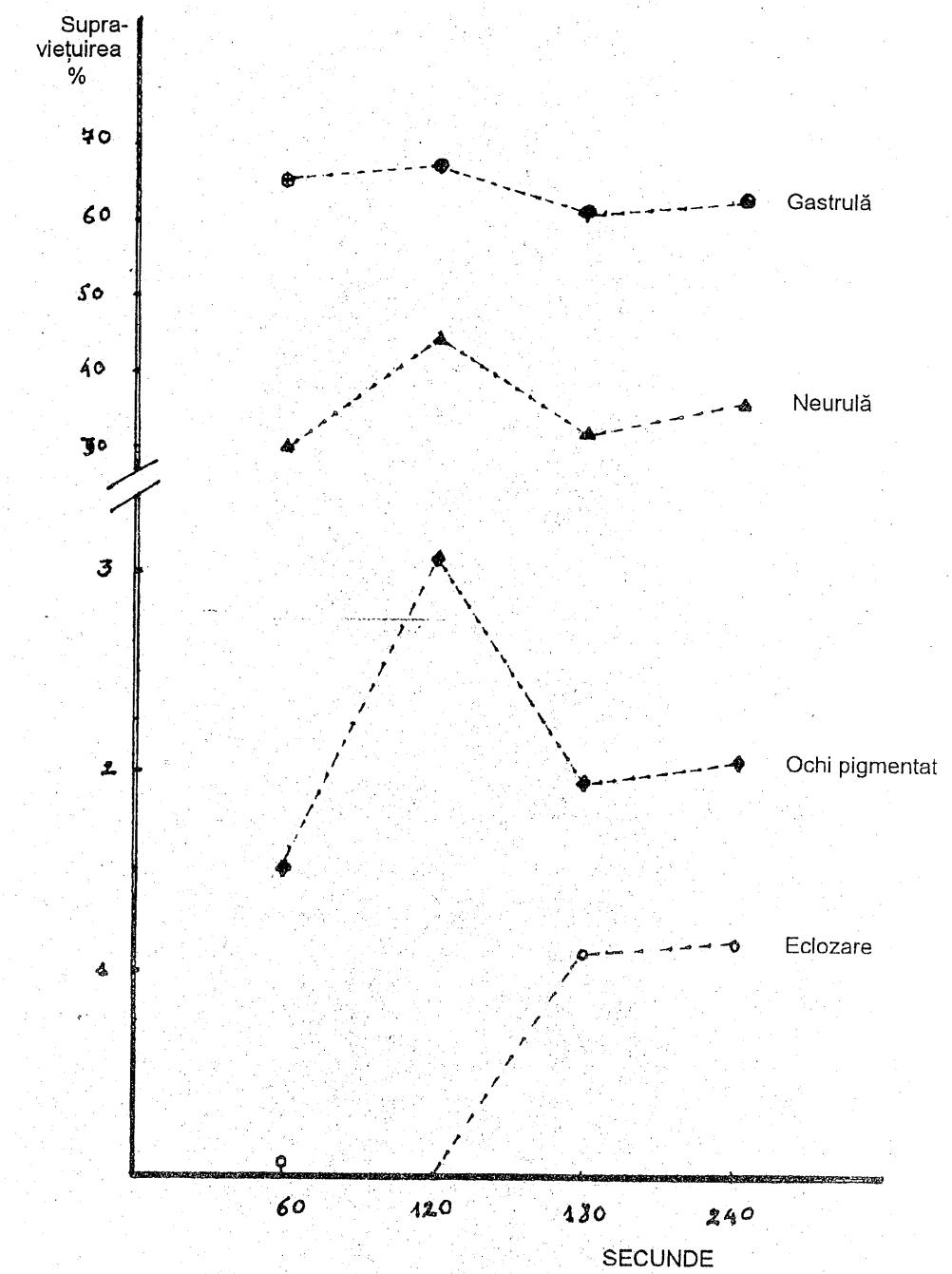


Fig. 3. – Supraviețuirea embrionilor în diferite stadii în funcție de doza UV administrată.

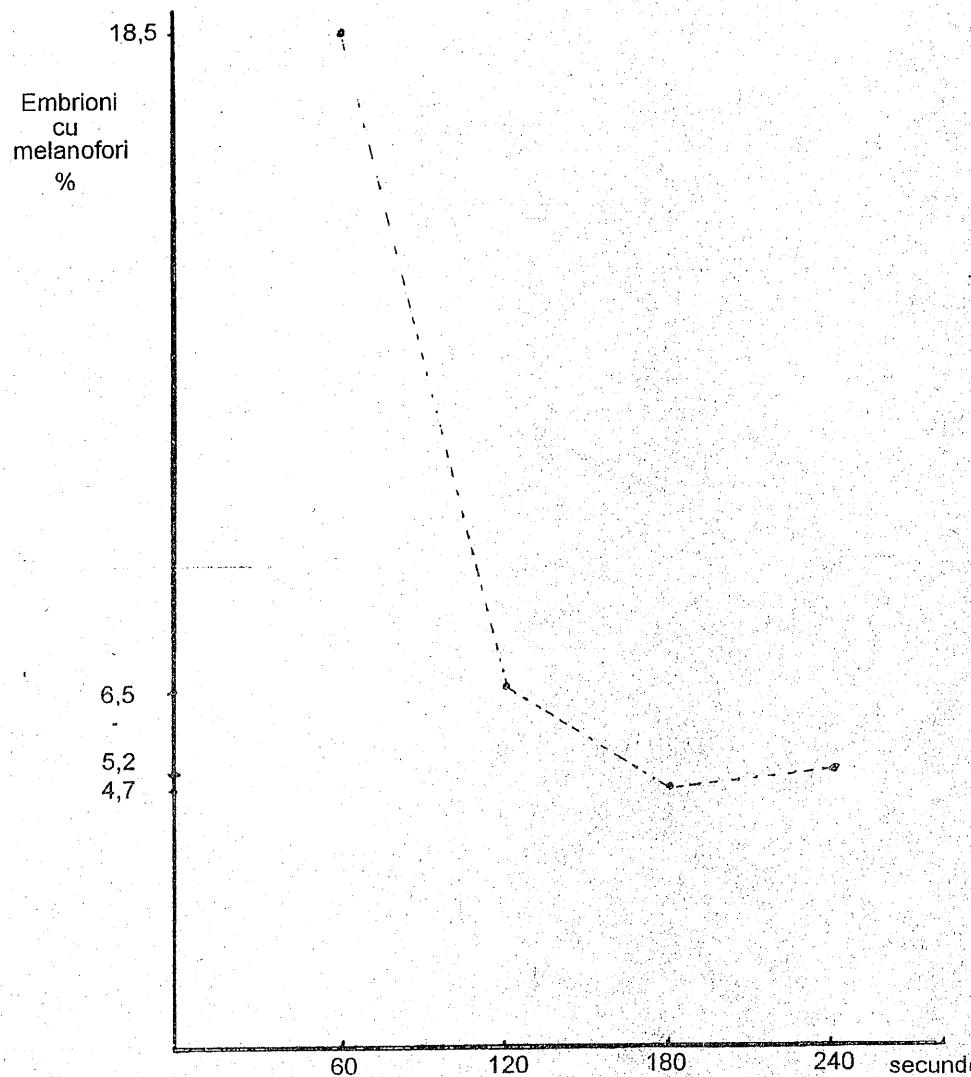


Fig. 4. – Proportia de embrioni cu melanofori în funcție de doza UV administrată.

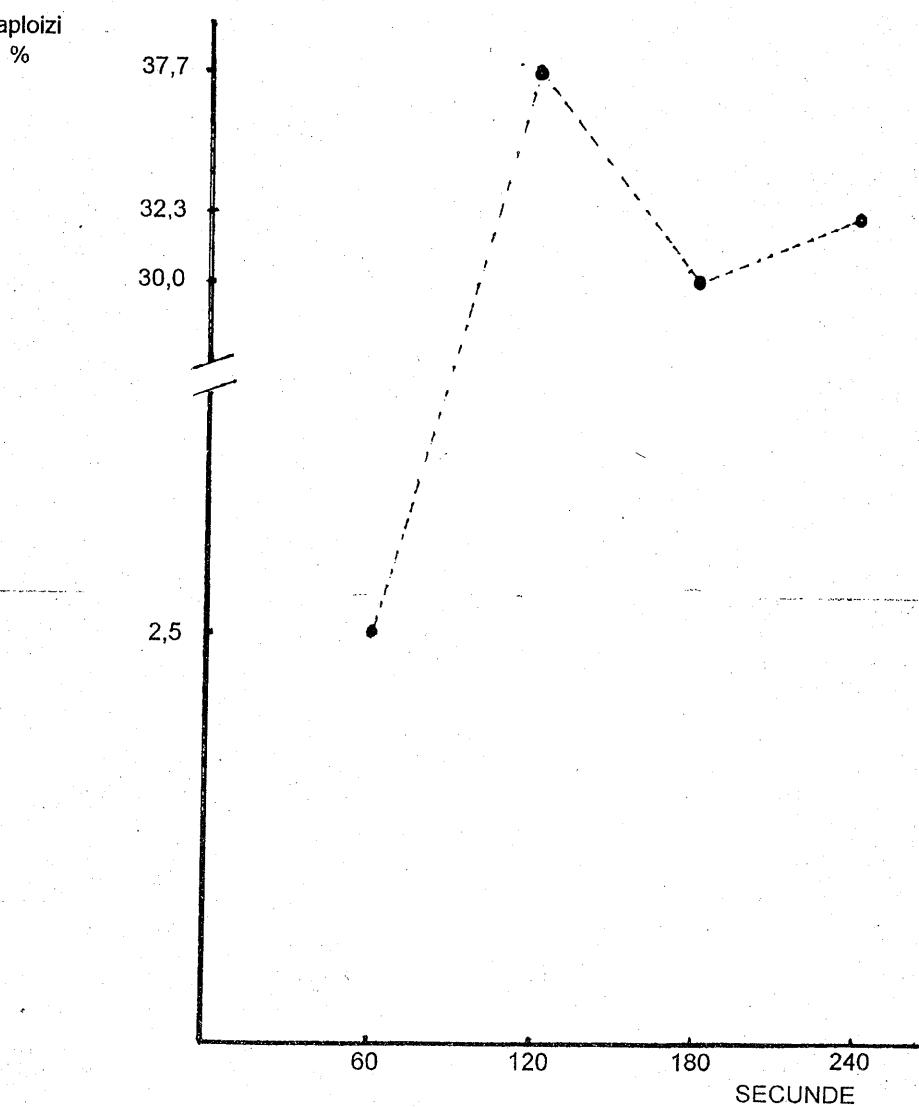


Fig. 5. – Proportia de embrioni haploizi în funcție de doza UV administrată.

2. Eficiența maximă a iradierei corespunde dozei de iradiere UV dată de timpul de expunere de 120 de secunde. La această doză se înregistrează o scădere substanțială a embrionilor cu melanofori, în timp ce procentul de embrioni haploizi crește semnificativ.

BIBLIOGRAFIE

1. DON J., AVTALION R.R. *Theor. Appl. Genet.*, **76**: 253–259, 1988.
2. GERVAI J., MARIAN T., KRASZNAI Z., NAGY A., CSANYI V., *J. Fish Biol.*, **16**: 435–439, 1980.
3. IJIRI K., EGAMI N., *Mutation Res.*, **69**: 241–248, 1980.
4. KOMEN K., DUYNHOUWER J., RICHTER C., HUISMAN E., *Aquacult.*, **69**: 227–239, 1988.
5. PARKES A.S., *Marshall's Physiology of Reproduction*, vol. I, part 2, Longmans London, 1965.
6. ROSTAND J., *La parthogénèse animale*, Paris, 1960.
7. TANIGUCHI N., KIJIMA A., TAMURA T., TAKEGAMI K., YAMASAKI I., *Aquacult.*, **57**: 321–328, 1986.

Primit în redacție
la 17 iulie 1995

*Stațiunea de Cercetări pentru Piscicultură, Nucet
0230 Nucet, jud. Dâmbovița*

DISTROFIA MUSCULARĂ PROGRESIVĂ DUCHENNE. ASPECTE GENETICE

DINA COPREAN*, ARIANA PROTASE**, MIHAI POPESCU**

Duchenne progressive muscular dystrophy (DMD) is an X-linked recessive (gonosomal recessive) disease, with a well defined clinical picture, whose underlying molecular cause is the deficiency of a muscular protein: dystrophin. The dystrophin gene is located on the X chromosome: X^p21.

DMD has an early onset (between 3 and 5 years of age), rapid evolution, death occurring before 20 years. The populational incidence of the disease is 1/3,500 male newborns; females are very rarely affected.

All treatment attempts, myoblast transplantation, gene transfer, have not produced the expected results. Treatment in our country is prophylactic, consisting in carrier detecting and genetic counselling.

Distrofia musculară progresivă Duchenne (DMD) este o boală cu transmitere recesivă legată de cromosomul X (gonosomal recessivă), cu tablou clinic bine definit, al cărui substrat molecular este deficiența unei proteine musculare: distrofina. Gena distrofineză este localizată pe cromosomul X:X^p21.

DMD are debut precoce (între 3 și 5 ani), evoluție progresivă rapidă și deces înainte de 20 de ani. Incidența bolii în populație este de 1/3 500 nou-născuți de sex masculin, sexul feminin este foarte rar afectat.

Toate încercările de tratament: transplant de mioblaști, transfer de gene nu au dat rezultatele scontate. Tratamentul efectuat la noi în țară este profilactic, constând în depistarea vectoarelor și sfat genetic.

*

Distrofia musculară progresivă Duchenne (DMD) este o boală bine definită clinic, cu tablou caracteristic, al cărei substrat biochimic este deficiența unei proteine musculare – distrofina (1,2,3,4,5,6,10,11).

Debutul bolii este precoce, situându-se între 3 și 5 ani având ca prim simptom deficitul de forță musculară la nivelul musculaturii pelviene, exprimat prin dificultăți la urcatul scărilor și la alergat (3,6,7,8,10,11).

Hipertrofia musculară apare la 80 % dintre bolnavi, fiind evidentă la nivelul musculaturii gambei. Imobilizarea în scaunul cu rotile survine în jurul vârstei de 11 ani, datorită evoluției amiotrofiei și accentuarea deficitului de forță musculară. Decesul bolnavilor cu DMD are loc înainte de vîrstă de 20 de ani, cu toate că aceștia beneficiază de asistență socială și medicală deosebită (3,6,7,10,11).

DMD se transmite recesiv, gena distrofinei fiind localizată pe brațul scurt al cromosomului X: X_p 21 (1,2,3,4,5,6,7,8,10).

Ne-am propus studiul genetic al acestui tip de distrofie musculară pentru că: DMD este cea mai frecventă și are evoluția cea mai dramatică. Forma tipică a DMD afectează 1/3 500 din nou-născuți de sex masculin. Sexul feminin este mai puțin afectat, deoarece gena este recesivă și se manifestă numai în momentul homozigotizării ei, sau a lyonizării preferențiale și în sindromul X (sindrom Turner).

MATERIAL ȘI METODĂ

Au fost investigați genetic și paraclinic un număr de 34 băieți cu DMD, internați la Centrul de Patologie neuro-musculară "Horia Radu" Vâlcele, jud. Covasna, în perioada aprilie 1993–ianuarie 1994.

Metodele utilizate sunt:

- a) Ancheta familială cu întocmirea fișei genetice și reconstituirea arborilor genealogici pentru precizarea mecanismului de transmitere al bolii.
- b) Investigațiile paraclinice: enzimograma serică, electromiograma (EMG) și biopsia musculară.

Enzimograma serică constă în determinarea nivelului seric al: creatinfosfatkinazei (CPK), metodă Foster G (1970), aldolazei (ALD-metoda Bruns F, 1954) și a transaminazelor: GOT (glutamat oxal-acetic transferaza) și GTP (glutamat piruvat transferaza) prin metoda Reitman (1957) (9).

Valoarea normală a activității serice la 25°C a: CPK este de 50 UI/1; ALD = 0,5–3,1 UI/1; GOT = 12 UI; GTP = 12 UI (9).

Pentru a confirma caracterul miogen al DMB am apelat la efectuarea EMG și a biopsiei musculare.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Determinarea nivelului seric al CPK are o mare importanță în confirmarea diagnosticului de DMD, fiind folosită și pe plan mondial, chiar dacă se poate doza și distrofina.

Nivelul seric al CPK este crescut de aproximativ 10 ori față de normal în perioada de debut și în stadiul acut, florid al bolii. Se remarcă o scădere a activității serice a acestei enzime odată cu evoluția bolii și imobilizarea în scaunul cu rotile.

Cercetările noastre sunt confirmate și de datele din literatura de specialitate cu privire la creșterea sau scăderea nivelului activității enzimatice a CPK. Aceasta fiind corelată cu vârsta bolnavului și gradul de mobilitate (7, 10).

În cazul aldolazei serice am constatat o creștere a activității enzimatice de aproximativ două ori față de normal. O creștere moderată a activității lor am constatat și în cazul enzimelor GOT și GTP. În ceea ce privește EMG-ul tuturor bolnavilor investigați au prezentat un traseu miogen interferențial (TIM), polifazic caracterizat printr-o diminuare a amplitudinii potențialelor de acțiune, EMG confirmă fondul miogen al bolii (fig. 1).

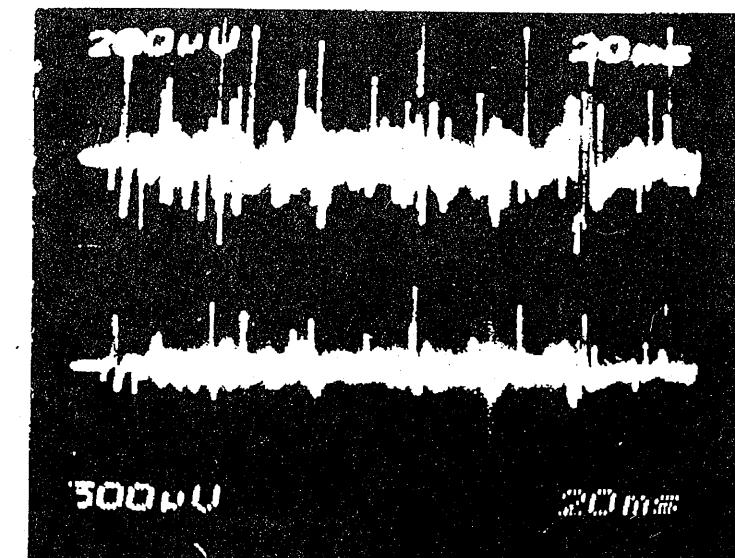


Fig. 1. – D.M.D. - electromiograma.

Studiul la microscopul optic al biopsiei musculare a pacienților cu DMD, investigați de noi, pune în evidență următoarele modificări:

– în stadiul de debut (inițial) fibrele musculare sunt organizate în fascicule, dar prezintă inegalătăți în dimensiune, unele fibre fiind deja hipertrofice cu tendință de rotunjire; apar zone cu fagocitoză și proliferare a țesutului conjunctiv endomisial (fig. 2);

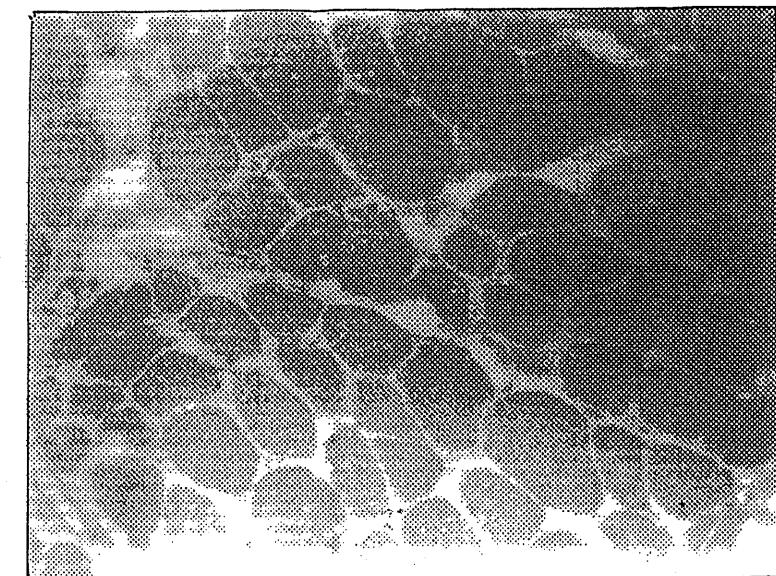


Fig. 2. – D.M.D. - stadiul de debut al evoluției bolii.

- în stadiul intermediar, caracteristică este hipertrofiera, rotunjirea și inegalitatea dimensională a fibrelor musculare, cu fenomene de regenerare, însotite de extinderea zonelor de necroză și fagocitoză, însotite de proliferarea țesutului conjunctiv endomisial (fig. 3);

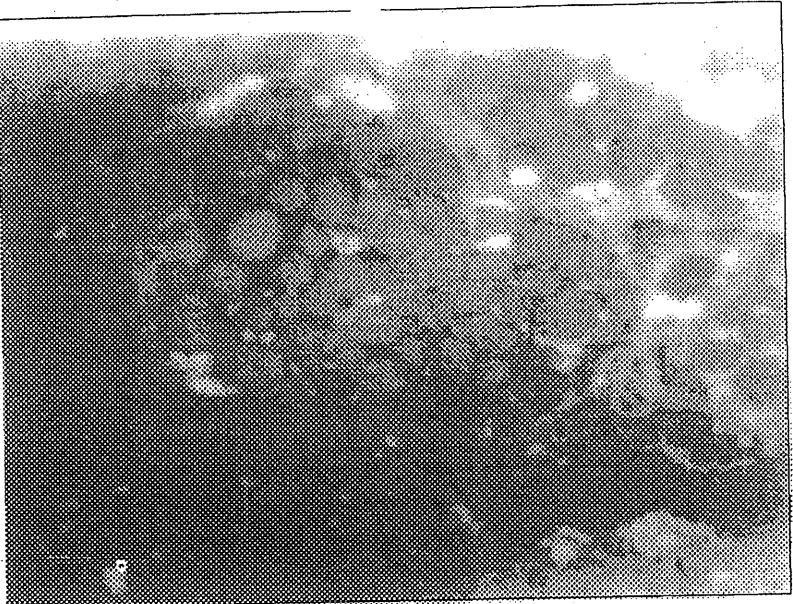


Fig. 3. - D.M.D. - stadiul intermediar de evoluție a bolii.

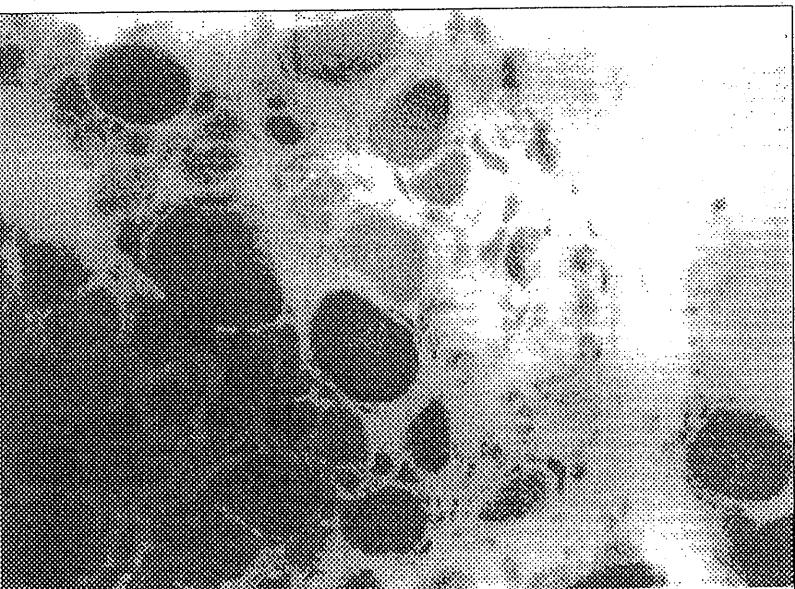


Fig. 4. - D.M.D. - stadiul final de evoluție a bolii.

- în stadiul final: numărul fibrelor musculare este redus, cele existente sunt rotunjite, cu inegalitate dimensională și nuclei situați intern și rar central; zonele de necroză sunt extinse, locul fibrelor musculare fiind luat de metaplazia țesutului adipos și proliferarea țesutului conjunctiv endomisial și perimisial (fig. 4).

Toate aceste perturbări privind activitatea enzimatică, structura fibrelor musculare, traseul EMG și tabloul clinic caracteristic DMD sunt consecința absenței distrofinei.

Gena distrofinei este una din cele mai mari gene umane, fiind formată din 75-79 exomi distribuiți pe lungimea a 23 megabaze ADN; ARN-ul mesager al distrofinei are o lungime de 14 kilobaze (1,2,3,5,10).

Distrofina este o proteină cu un nivel foarte scăzut, cam 0,002 % din proteinele mușchiului scheletic. Absența sintezei distrofinei este în aproximativ 70 % din cazuri datorată delețiilor ce au loc în zona centrală a genei, în regiunea exonilor 45-53. În celealte cazuri, delețiile afectează capătul 5' al genei, regiunea promotorului și a primului exon (3,5,10).

Distrofina are porțiuni omoloage cu unele proteine membranare ca: alfa-actina și spectrina, ce sunt localizate în plasmalemă. Acestea au rolul de a lega anumite proteine membranare, cum sunt glico-proteinele asociate distrofinei și care controlează fluxul de calciu prin plasmalemă (10).

Demonstrarea mecanismului gonosomal (legat de cromosomul X) recessiv de transmitere al bolii, l-am efectuat prin reconstituirea arborilor genealogici pe baza fișei genetice în cazul celor 30 de familii.

În toate aceste familii boala afectează numai persoanele de sex masculin, penetranța genei fiind absolută.

Vom reda câțiva dintre cei mai reprezentativi arbori genealogici care susțin mecanismul de transmitere gonosomal recessiv (legat de cromosomul X).

În familia P.G. (fig. 5) pe parcursul a cinci generații se remarcă existența a 7 persoane de sex masculin cu DMD, dintre care 3 sunt decedate. Tabloul clinic este caracteristic, omogen la toți cei bolnavi, debutul bolii până la vîrstă de 3 ani, precum și evoluția progresivă spre imobilizare și deces confirmă diagnosticul de DMD. Investigațiile paraclinice efectuate probandului (CPK = 172 UI/l; ALD = 14,05 UI/l; GOT = 36 UI), biopsia musculară cu aspect caracteristic pentru stadiul inițial al bolii; EMG = traseu interferențial miogen, confirmă diagnosticul clinic.

Gena mutantă a distrofinei se manifestă în fenotip în familia T.M. (fig. 6) afectând: probandul, 2 verișori ai mamei probandului și 2 unchi pe linie maternă ai probandului. Unchii și verișorii mamei probandului au suferit de aceeași afecțiune ca și probandul și au decedat la vîrste între 17-19 ani.

Debutul precoce al bolii (2 ani și 6 luni), evoluția tabloului clinic, EMG = Traseu interferențial miogen, CPK = 1311 UI; ALD = 16,2 UI/l; GOT = 20 UI, GTP = 19 UI, biopsia musculară indicând stadiu intermediar de evoluție al bolii la proband, precum și încărcătura genetică familială, confirmă existența DMS în această familie.

Pe parcursul a patru generații gena morbidă a distrofinei se exprimă în fenotip la 4 din cei 9 băieți ai familiei C.A. (fig. 7), fiind bolnavi: 2 frați ai bunicii materne

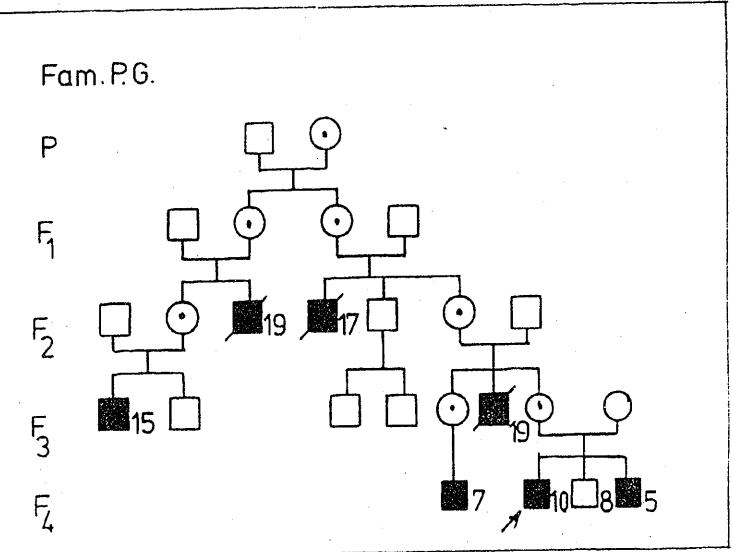


Fig. 5. – Pedigree-ul familiei P.G.

a probandului (au decedat înainte de 20 de ani); frațele probandului care a decedat la vîrstă de 15 ani cu diagnosticul de DMD și debut la 1 an și 6 luni și probandul în vîrstă de 10 ani.

Primele semne ale bolii la proband au fost semnalate la vîrstă de 2 ani, iar investigațiile paraclinice: biopsia musculară ce indică stadiu intermediar de evoluție al bolii; EMG = TIM și CPK = 90 UI/l; ALD = 71,02 UI/l; GOT = 20 UI; GTP = 18 UI, confirmă diagnosticul clinic de DMD în această familie.

Tabloul clinic caracteristic DMD prezent la proband și la cei doi frați ai săi (fig. 8), corroborat cu investigațiile paraclinice efectuate acestuia și fraților săi, confirmă diagnosticul.

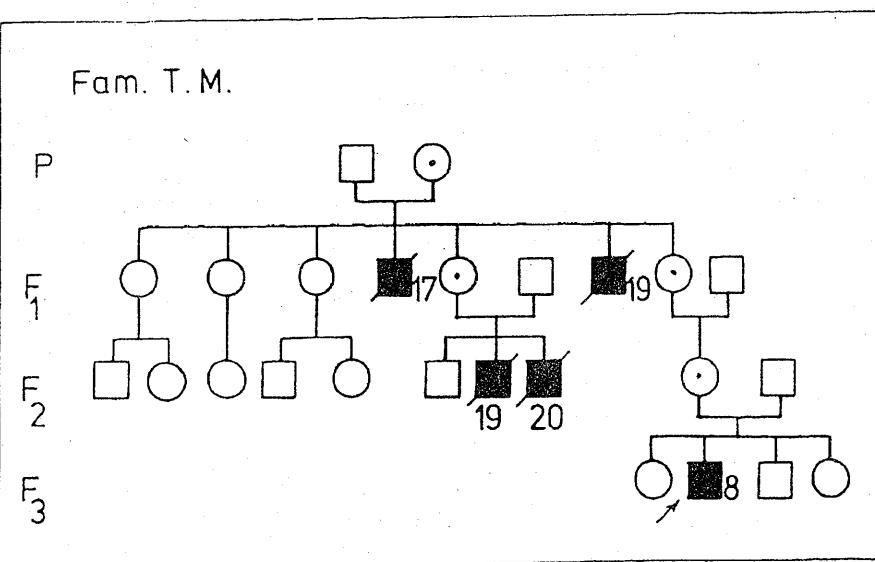


Fig. 6. – Pedigree-ul familiei T.M.

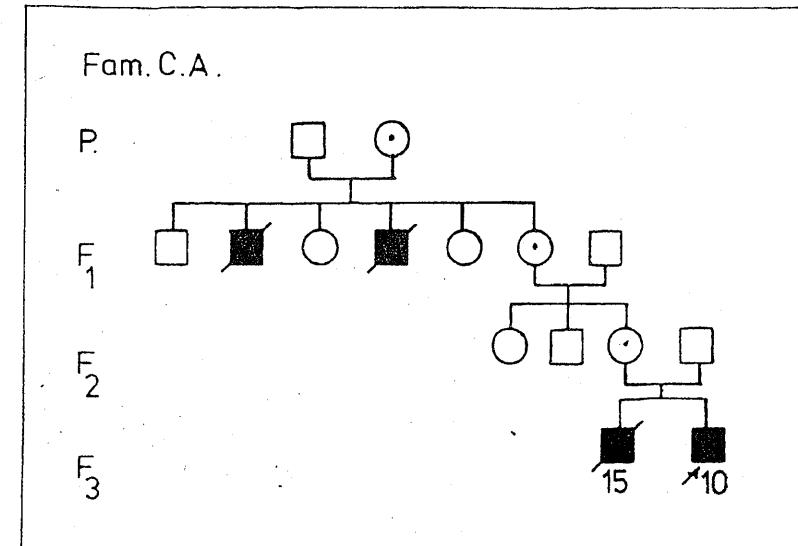


Fig. 7. – Pedigree-ul familiei C.A.

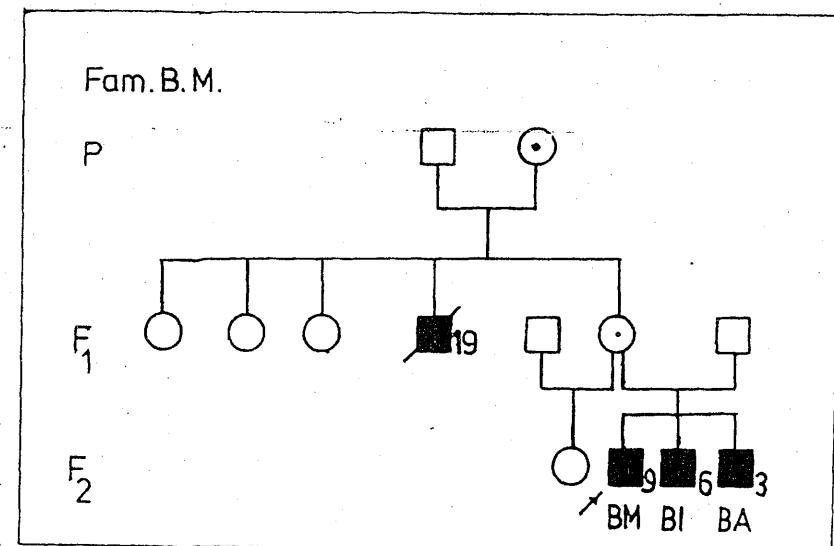


Fig. 8. – Pedigree-ul familiei B.M.

LEGENDA:

- bărbat sănătos
- femeie sănătoasă
- bărbat bolnav
- femeie conducătoare de genă gonosomal recessivă
- + decedat
- proband
- △ gemeni monozigoti
- △□ gemeni dizigoti

Astfel:

- probandul - *B.M.* - CPK = 1302 UI/l; ALD = 33,5 UI/l; GOT = 30 UI; GTP = 28 UI; EMG = TIM; biopsia musculară indică stadiu intermediar de evoluție a DMD;
- fratele probandului - *B.A.* - CPK = 3015 UI/l; ALD = 30,3 UI/l; GTP = 16 UI; GOT = 18 UI; biopsia musculară indică stadiu inițial de evoluție al bolii;
- fratele probandului - *B.I.* - CPK = 2805 UI/l; ALD = 19,8 UI/l; GOT = 18 UI; GTP = 16 UI; EMG = TIM; biopsia musculară indică stadiu inițial de evoluție a bolii.

Vârsta de debut a bolii la acești bolnavi este de 3 ani (*B.M.* și *B.A.*) și 2 ani și 6 luni (*B.I.*). Diagnosticul clinic de DMD și modul de transmitere gonosomal recessiv al bolii, în această familie, este confirmat și de faptul că fratele mamei băieților bolnavi a suferit de aceeași afecțiune și a decedat la vîrstă de 19 ani.

Caracteristic pentru modul de transmitere a genei mutante a distrofinei este faptul că, femeile din familiile afectate pot să fie sau nu vectoare pentru această genă, iar băieții sunt bolnavi. O vectoare are riscul ca 50 % din băieții ei să fie afectați și 50 % din fete să fie vectoare. Gena mutantă a distrofinei se transmite doar de la mamele vectoare, pentru că băieții bolnavi nu au descendenți din cauza evoluției bolii.

Tratamentul aplicat pacienților cu DMD din întreaga lume este doar profilactic.

Metodele moderne de tratament nu au dat până în prezent rezultatul scontat. Folosirea adenovirusurilor pentru inserția genei normale a distrofinei a dat rezultate doar *in vitro*, nu se știe ce rezultat vor avea la om, pentru că aceste virusuri nu au specificitate pentru un anumit țesut.

Transplantul de mioblaști ameliorează deficitul de forță musculară și prelungește starea de mobilitate, fără ca acești mioblaști să refacă mușchiul distrus.

Prin depistarea stării de vectoare a fetelor din familiile în care este prezentă gena mutantă a distrofinei, prin sfat genetic și diagnostic prenatal se poate reduce riscul recurenței și frecvența DMD în populație.

CONCLUZII

1. Studiul distrofiei musculare progresive Duchenne este motivat de frecvența relativ mare a acesteia în populație și de gravitatea sa.
2. DMD este o boală cu transmitere recessivă legată de cromosomul X, având ca substrat molecular deficiența distrofinei, a cărei genă este localizată pe X:X_p 21.
3. Nivelul seric al CPK este de 10 ori mai mare la bolnavi, față de normal, în perioada de debut și stadiu acut al bolii. Aldolaza serică crește de două ori față de normal, iar GOT și GTP prezintă o creștere moderată.
4. Studiul EMG indică un traseu miogen interferențial, polifazic, caracterizat prin diminuarea amplitudinii potențialelor de acțiune.
5. Reconstituirea arborilor genealogici pe baza fișei genetice realizată la familiile studiate demonstrează transmiterea bolii numai la persoanele de sex masculin, penetrația genei fiind absolută.
6. Menționăm importanța educației la nivel populațional pentru realizarea unei profilaxii corespunzătoare.

BIBLIOGRAFIE

1. BAUMBACH L.L., PH. D., CHAMBERLAIN J.S., PH. D.; WARD' PH., Molecular and clinical correlations of deletions leading to Duchenne and Becker muscular dystrophies - *Neurology*, **39**: 465-474, 1989.
2. BARTLETT R.J., PH. D.; PERICAK-VANCE M.A., PH.D; et all: Duchenne muscular dystrophy. High frequency of deletions: *Neurology*, **38**: 1-4, 1988.
3. EMERY H. ALAN: Diagnostic criteria for Neuromuscular Disorders. European Neuromuscular Centre Boarn, The Netherlands, 1994.
4. JEFFEREY S., CHAMBERLAIN, Duchenne muscular dystrophy; *Current Opinion in Genetics and Development*, **1**: 11-14, 1991.
5. KIICHIRD MATSUMURA MD, and KEVIN P. CAMPBELL PH. D; Dystrophin-glicoprotein complex its role in Molecular Pathogenesis of Muscular Dystrophies; *Muscle and Nerve*, **17**: 2-15, 1994.
6. MCKUSICK V., Mendelian Inheritance in Man, The John Hopkins University Preso Baltimore and London, 1988.
7. POPESCU MIHAI, Atlas de patologie eredodegenerativă neuromusculară, Edit. Medicală, București, 1989.
8. PROTASE ARIANA, Curs de genetică medicală, Litografia U.M.F. Cluj-Napoca, 1992.
9. REITMAN F., Technique modern de laboratoire, Ed. Masson, 1961.
10. TERENCE PARTRIDGE, Molecular and Cell Biology of muscular Dystrophy Chapman and Hall, Cambridge, 1993.
11. WALTON L., Disorders of Voluntary Muscle, Churchill Livingstone, 1988.

Primit în redacție
la 5 IX 1995

*Catedra de Genetică - U.M.F.
Cluj-Napoca

**Centrul de Patologie Musculară „Horia Radu”
Vâlcele, jud. Covasna

CERCETĂRI PRIVIND POPULAȚIILE DE PLOȘNIȚA
CEREALELOR (*EURYGASTER INTEGRICEPS* PUT.)
DIN ROMÂNIA ȘI IRAN

IOAN ROȘCA, CONSTANTIN POPOV *

The actual evolutionary units which seem to be populations of sunn pest from Iran and Romania within species *Eurygaster integriceps* Put., in reciprocal cross laboratory tests, have proved that there is no yet, genetic incompatibility or reproductive isolation, due perhaps to a continuous gene flow between neighbouring populations. There were no significative differences between reciprocal crosses of female and male originating from Iran or Romania, regarding the life period of overwintering adults, percentage of sterile couples, number of eggs/fertile female, incubation period of eggs and development of first nymph stage.

Semnalate în România încă din secolul trecut, în 1885 de Montandon (11) specii ale genului *Eurygaster* Latreille încep să fie menționate ca dăunătoare la cereale păioase după anul 1920 când sunt înregistrate de Rădulescu (22) unele daune în Transilvania, datorită speciilor *Eurygaster maura* și *E. austriaca*. Specia *E. integriceps* Put. nu este semnalată în România la mijlocul secolului trecut (12), fiind citată pentru prima dată în 1938 de Rădulescu și Gruiță (23).

Pe plan economic ploșnițele cerealelor au început să se manifeste ca dăunători de mare importanță economică după anul 1963 în sud-estul țării, în special în Dobrogea, unde pagubele au fost urmarea atacului speciilor *E. integriceps*, *E. maura* și *E. austriaca* (5), (6), (14).

Culturile de grâu din țara noastră sunt confruntate an de an cu atacul ploșnițelor cerealelor, care, în special în județele sudice, prezintă nivele ridicate ale populațiilor, cu mult peste pragul economic de dăunare (4), (5), (13). Această zonă constituie arealul principal de dăunare și este determinat de prezența speciei *Eurygaster integriceps*, care reprezintă 95–99 % din totalul ploșnițelor întâlnite în culturile de grâu (15), (16), (17), (18).

În prezent în România sunt cunoscute patru specii ale genului *Eurygaster* Latreille, *E. maura*, *E. austriaca*, *E. integriceps* și *E. testudinaria* din cele 14 specii ale genului răspândite numai în regiunea holarctică (24).

Problema ploșnițelor cerealelor este în România, prin răspândire, dominanță, modul de dăunare și pagubele produse, problema speciei *E. integriceps*, aşa cum subliniază Popov (18), (20).

Materialul de față prezintă rezultatele obținute în laborator în 1994, prin încruzișarea în diferite variante a exemplarelor de *E. integriceps* din România cu cele aduse din Iran, din locurile de hibernare situate pe înălțimile din zona orașului Espan, cu ocazia vizitei științifice efectuate la invitația Universității din Teheran, Facultatea de Agricultură^{1**}, în cursul lunii aprilie 1994. Scopul urmărit de cercetările efectuate, este de a se identifica existența sau nu a unui început de separare alopatică în cadrul populațiilor speciei, luând în considerare faptul că există, pe de o parte, deosebiri de comportament între populațiile analizate și condiții climatice diferite în zonele în care trăiesc cele două populații, iar pe de altă parte, extinderea speciei din arealul de origine și pătrunderea în țara noastră s-a făcut în ultima jumătate de secol.

MATERIAL ȘI METODĂ

Materialul biografic a constat dintr-o populație de *E. integriceps* provenită din Iran, colectat din locurile de hibernare în perioada 30 martie – 4 aprilie 1994 și o populație din România (zona Fundulea) colectată în aceeași perioadă, încruzișat în 4 variante: femelă-Iran X mascul-România; femelă-România X mascul-Iran; martor România (femelă-România X mascul-România) și martor Iran (femelă-Iran X mascul-Iran). În total s-au urmărit 200 de perechi (50 de perechi/variantă), fiecare pereche crescând într-o cușcă de creștere individuală după tehnica lui Remaudiere descrisă de Safavi (27) și folosită curent în România (18), (19).

Creșterea s-a făcut în condiții favorabile temperatura 20–35°C și 60–80 % UR. Pentru depunerea ouălor au fost folosite benzi de hârtie, 100/7 mm. Zilnic s-a schimbat banda de hârtie și flaconul cu vată umedă pentru asigurarea umidității, în timp ce plănuțele de grâu încolțit s-au schimbat săptămânal. Ouăle au fost recoltate zilnic și au fost menținute în aceleași condiții ca și adulții hibernanți. Au fost înregistrate: numărul de zile de supraviețuire a masculilor și femelelor; dinamica depunerii pontei de ploșnițe; numărul de ouă depus/femelă; procentul de ecloziune; evoluția ecloziunii nimfelor de ploșniță și durata dezvoltării primului stadiu de nimfă.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelele 1 și 2.

Datele privind longevitatea masculilor și femelelor arată că media supraviețuirii individuale nu diferă semnificativ în cele 2 variante de încruzișări reciproce (femelă-Iran X mascul-România și femelă-România X mascul-Iran), fiind de 34,3 respectiv 36,2 zile cu limite destul de largi de 7,5–40,5 respectiv 5,7–42,2 pentru femele, 30,1 respectiv 32,8 cu limite de 4,5–34,5 respectiv 8,2–34,7 pentru masculi. Mai ales, trebuie subliniat faptul că aceste date nu diferă de încruzișările martor, în care s-au utilizat masculi și femele de aceeași proveniență (tabelul nr. 1).

¹Mulțumim pe această cale pentru sprijinul acordat: prof. Esmaeli I., de la Universitatea din Teheran, Facultatea de Agricultură-Karaj, dr. Radjabi F., de la Laboratorul de zoologie a Institutului de Protecția Plantelor din Teheran și dr. Rasipour A., de la Organizația de Protecția Plantelor a Ministerului Agriculturii din Iran.

Tabelul nr. 1
Longevitatea femelelor și masculilor crescuți în laborator

VARIANTA	Longevitatea femelelor (zile)		Longevitatea masculilor (zile)	
	femela x mascul	Limite	Medie	Limite
IRAN ROMÂNIA	7,5-40,5	34,3	4,5-34,5	30,1
ROMÂNIA IRAN	5,7-42,2	36,2	8,2-34,7	32,8
MARTOR ROMÂNIA	2,2-41,0	37,7	5,2-31,5	29,5
MARTOR IRAN	1,0-42,7	37,1	3,0-32,2	27,6

Luând în considerare principalii parametrii biologici care reflectă compatibilitatea celor două populații de proveniență diferită, datele prezentate în tabelul 2, pentru varianta de încruzișare, femelă din Iran X mascul din România și varianta femelă din România X mascul din Iran, arată faptul că nu există diferențe semnificative privind procentul de cupluri sterile (6 % respectiv 8 %), numărul de ouă/femelă fertilă (44,6, respectiv 43,0), numărul de zile necesare de la depunerea pontei până la ecloziunea nimfei de stadiu I (8,3, respectiv 9,1 zile) și durata primului stadiu nimfal (6,5, respectiv 7,4 zile).

Tabelul nr. 2
Principalii parametrii biologici urmăriți în încruzișările reciproce

VARIANTA	Procent cupluri sterile	Nr. ouă/femelă fertilă	Perioada ou-ecloziune (zile)	Durata primului stadiu nimfal (zile)
IRAN ROMÂNIA	6,0	44,6	8,3	6,5
ROMÂNIA IRAN	8,0	43,0	9,1	7,4
MARTOR ROMÂNIA	2,0	51,2	9,5	7,1
MARTOR IRAN	10,0	44,6	8,5	6,9

Datele referitoare la încruzișările reciproce nu diferă semnificativ față de datele corespunzătoare obținute pentru variantele martor din Iran și România.

Noțiunea de specie s-a impus, într-o formă pe care o recunosc toți specialiștii, de la introducerea acestei noțiuni de Ch. Linné. Criteriul izolării reproductive, pe care se bazează noțiunea de specie, a fost admis de majoritatea zoologilor.

Concepția biologică a speciei multidimensionale formulată de Mayr (10), dezvoltată de Bănărescu (2) privește specia ca un ansamblu de populații în cadrul căruia indivizi se încruzișează liber între ei, atât în cadrul populației cât și între populațiile vecine, existând posibilitatea ca în cadrul unor populații mai îndepărtate, să apară mecanisme care pot eventual împiedica încruzișarea. Evoluția unei specii

se realizează în concordanță cu originea ei și condițiile concrete de mediu și evoluție a acestuia, depinzând de spațiul geografic în care specia evoluează (1), (3).

După Roșca (24), (25), specia *Eurygaster integriceps* Put. are drept origine centrul de răspândire arboreal iranian al elementelor faunistice caracterizat de Lattin în 1957 (9), fiind unul din cele 23 de elemente turanice semnalate în România (26).

Specia *E. integriceps* constituie un exemplu tipic de extindere a arealului unei specii, sub influența factorului antropic. Cu toate că centrul biogenetic (de origine) al speciei este refugiu arboreal iranian, în urma lucrărilor de desfelenire a stepei, în special din fosta Republică Sovietică Kazahă și cultivării terenurilor intrate în circuitul agricol cu cereale, mai ales cu grâu, s-a ajuns ca în această zonă specia să se înmulțească (masiv și rapid) și acest teritoriu să devină centru de densitate maximă a speciei, de unde specia s-a răspândit spre Vest. Extinderea arealului speciei în continuare se dătorește în exclusivitate extinderii suprafeței cultivate cu graminee în sudul Rusiei prin desfelenirea stepei în cursul anilor din deceniul al 4-lea. Acest fapt a creat o bază de nutriție întinsă, fapt ce a permis înmulțirea în masă a speciei, urmată de extinderea arealului spre Vestul Europei (14), (24).

Extinderea arealului speciei s-a făcut în etape, la început numai în Sudul Rusiei, apoi specia este semnalată în România de Rădulescu și Gruiță în 1942, unde ocupă suprafețele din Estul și Sudul arcului Carpațic, în restul țării fiind semnalată doar local în Banat și accidental în Bihor (15), dar după 1960, ea devine principalul dăunător pentru cultura de grâu din Sud-Estul țării. Din Sud-Estul României specia se extinde în Bulgaria, unde este semnalată inițial numai în Nord-Estul țării (8), de unde pătrunde în Nordul Greciei și în Vestul Turciei (20). Din Vestul României (județele Dolj și Mehedinți), dăunătorul pătrunde în Iugoslavia (28). În Ungaria, deși așteptată, în 1970 Racz nu o semnalează (21) și nici Benedek în 1971, deși analizează peste 30 000 de insecte capturate în grâu (7).

În Iran prin caracteristicile sale, *Eurygaster integriceps* se înscrie tipic în partea rece a zonei forestiere xerofile, pe de o parte, și în limita zonei cu vegetație stepică.

În zona cu vegetație stepică, supraviețuirea speciei este bazată pe migrația ce o face ploșniță între culturile irrigate sau neirigate din climatul subdeșertic modificat prin irigare și locurile de estivare situate la 800 – 1300 m, locuri cu climat subxeric rece ocupate de un ansamblu vegetal format preponderent din speciile *Artemisia helba alba*, *Astragalus* sp. și *Achantholimon* sp. La începutul primăverii, ploșnițele migrează din locurile de hibernare situate la altitudinea medie de 1 800 m în culturile de grâu, la altitudinea medie de 900 m. Înainte de recoltarea cerealelor păioase nouă generație de ploșnițe migrează 10 – 20 km spre locurile de estivare situate la 2100 m. Primele ploi din septembrie declanșează o nouă migrație spre refugii situate pe pante sau marginile văilor situate cu circa 2 – 300 m mai jos.

În România specia *E. integriceps* hibernează de preferință în pădurile de stejar din zona de stepă și silvostepă a Sudului și Estului țării, migrația desfășurându-se pe orizontală în și dinspre lanurile de cereale sau pădure.

În ciuda faptului că există diferențe de comportament între populația de ploșnițe din Iran și România, datele obținute pledează pentru ideea de identitate a celor două populații.

În concluzie, datorită faptului că exemplarele din Iran și România se pot încrucișa liber între ele, neexistând bariere morfologice, în urma încrucișărilor reciproce rezultă produși viabili, care se dezvoltă normal în condițiile experimentale date, având totodată în vedere că parametrii biologici urmăriți nu diferă semnificativ în cadrul variantelor prezentate, se poate afirma că cele două populații, din Iran și România, aparțin aceleiași specii, neexistând deocamdată premisele apariției unui proces de speciație.

BIBLIOGRAFIE

1. BĂNĂRESCU P., Principii și probleme de zoogeografie, Edit. Academiei R.S.R., p. 260, 1970.
2. BĂNĂRESCU P., Principiile și metodele de zoologie sistematice, Edit. Academiei R.S.R., p. 219, 1973.
3. BĂNĂRESCU P., BOȘCAIU N., Biogeografie, Edit. Științifică, București, p. 302, 1973.
4. BĂRBULESU AL., An. I.C.P.P., 3: 169–176, 1967.
5. BĂRBULESU AL., POPOV C., VIII Mejdunarodnii Congress po zascite rastenii, Sec. II, 14–24: 1975.
6. BĂRBULESU AL., POPOV C., An. I.C.P.P., 7: 159–164, 1971.
7. BENEDEK P., Acta Phytopath., Acad. Scien. Hungaricae, 6: 191–200, 1981.
8. LAZAROV A., GRIVANOV ST., ARABADJIOV D., KONTEV H., KAITAZOV A., POPOV V., GOSPODINOV G., BOGDANOV P., FURTUNOV D., DUCEVSCHI B., Jimite darvenitiv Bulgaria I borbata s teah, Sofia, p. 148, 1969.
9. LATTIN G., De Grundriss der Zoogeographie, Ed. G. Fischer, Stuttgart, 1967.
10. MAYR E., Animal Species and Evolution, The Belknap Press, Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 797, 1963.
11. MONTANDON A.L., Rev. d'Ent. Caen, IV: 164–174, 1885.
12. MONTANDON A.L., Rev. d'Ent. Caen, V: 257–264, 1885.
13. PAULIAN FL., BĂRBULESU AL., Ploșnițele cerealelor, Red. Rev. Agric., p. 40, 1970.
14. PAULIAN FL., POPOV C., Sunn pest of cereal bug, Wheat monograph, Basel, 69–74, 1980.
15. POPOV C., An. I.C.P.P.T., 38, seria C: 77–90, 1972.
16. POPOV C., Probl. Prot. Plant., 2 (2): 167–197, 1974.
17. POPOV C., Probl. Prot. Plant., 3 (1): 39–56, 1975.
18. POPOV C., Contribuții la studiul ecologic al speciilor genului *Eurygaster* Lap. (Heteroptera), cu referire specială la *Eurygaster integriceps* Put. Teză de doctorat, Universitatea București, p. 186, 1977.
19. POPOV C., Arch. Phytopathol. u. Pflanzenschutz, 14 (6): 373–382, 1977.
20. POPOV C. și colab., Symposium Eurygaster-ROUSEL UCLAF, 1–3 June, Istanbul-Turkey, 42–61, 1992.
21. RACZ V., Novenyvedelem, 6: 49–54, 1970.
22. RĂDULESCU E., Agricultura nouă, 5: 214, 1938.
23. RĂDULESCU E., GRUIȚĂ V., Bul. Fac. Agric. Cluj, 9: 438–465, 1942.
24. ROȘCA I., Contribuții la sistematica și zoogeografia heteropterelor terestre din R.S. România, Teză de doctorat, Institutul Central de Biologie-București, p. 201, 1978.
25. ROȘCA I., Rev. Roum. Biol., Serie biologie animale, 28 (5): 55–58, 1983.
26. ROȘCA I., Rev. Roum. Biol., Serie biologie animale, 29 (1): 77–80, 1983.
27. SAFAVI M., Entomofaga, 13 (5): 381–495, 1968.
28. TADIC M., The appearance and control of sunn pest in Yugoslavia, Plant. Prot. Conference, Varna-Bulgaria, 21–25, 1969.

Primit în redacție
la 29 noiembrie 1995

Institutul de Cercetări pentru Cereale și Plante Tehnice,
8264-Fundulea jud. Călărași

ERORI PRIVIND RĂSPÂNDIREA UNOR SPECII DE PĂSĂRI ÎN ROMÂNIA (VII)

D. RADU

This paper is the seventh part of a series treating the error existing in the foreign ornithological literature from 1954 up to 1989, dealing with the situation of the geographical spreading areas and the presence period of some bird species in Romania. The present paper analyses species belonging to the order Passeriformes (*Muscicapidae*, *Paridae*, *Paradoxornithidae*, *Sittidae*, *Certhiidae*, *Emberizidae*).

Familia Muscicapidae

Muscicapa striata (muscar sur), pasăre de vară, cuibărind în toate pădurile cu frunziș din țară, frecvent în ținuturile joase umede, dar urcând și pe văile râurilor până în zona pădurilor de amestec.

Este figurat pentru întreaga țară, inclusiv Carpați (3) (14) (22) (23) (25) (28) (30–34) sau nu ar exista deloc în România (2)¹.

Ficedula parva (muscar mic), pasăre de origine mediteraneană (36), răspândită ca oaspe de vară în Carpați, în etajul Tetraonidelor (37).

Apare redat ca fiind răspândit în toată țara, inclusiv în ținuturile de câmpie (3) (4) (8) (14) (22) (23) (28) (30–34) (54) sau în toată țara, fără porțiunea ei vestică (55), fie ca neexistând în România (13).

Ficedula albicollis (muscar gulerat), specie de vară, deși rară, prezintă o largă răspândire în pădurile de foioase de la șes și deal, dar urcând și la munte până în văile largi din porțiunea medie a râurilor. Apare figurat și pentru Delta Dunării ca specie cloicotăre (6).

Nu este redat și pentru jumătatea estică a Munteniei și Dobrogea (31) ori ca fiind prezent numai în jumătatea sud-estică a țării (55), sau lipsind în partea estică a României, inclusiv Carpații Orientali (13), fie că apare răspândit în toată țara, inclusiv Carpați (4) (14) (22) (23) (25) (30) (32–34), precum ca și prezent în toată porțiunea de nord-vest a României, dar fără Carpații de Curbură (51).

Ficedula hypoleuca (muscar negru), pasăre rară de vară, mai ales pentru jumătatea nordică a României, clasificată în etajul Columbidelor (42), cuibărind în pădurile dese de foioase cu subarboret bogat, mai frecvent în preajma malurilor apelor, urcând și pe văile râurilor până în porțiunea lor mijlocie. Este găsit un cuib cu 7 ouă în Munții Bihorului la 850 m altitudine (18), ca și semnalat în Depresiunea

¹ Arealul indicat de acest autor pentru *Muscicapa striata* reprezintă o vădită confuzie cu arealul lui *Ficedula hypoleuca*, aşa cum reiese și dintr-o ediție viitoare (B. Bruun și colab., 1971).

Maramureş în păduri de foioase (1). Apare figurat ca specie clocitoare şi pentru sud-estul ţării şi sudul Dobrogei (6).

Este redat ca fiind răspândit în toată ţara, inclusiv Carpaţii (8), ori prezent numai în nord-estul ţării (30), fie ca neexistând deloc în România (3) (4) (13) (14) (22) (23) (25) (28) (31–34) (51) (54) (55).

Familia Paridae

Parus cristatus (piţigoi moţat), specie sedentară în tot lanţul carpatic, populând etajul Tetraonidelor, fiind mai bine reprezentat în subetajul Gotcanului (37).

Nu figurează pentru Carpaţii Orientali şi Carpaţii de Curbură (7), ori apare răspândit în toată ţara, inclusiv câmpia, cu excepţia unei regiuni vestice şi a uneia sud-estice (estul Munteniei, sudul Moldovei şi Dobrogea) (30), sau răspândit în toată ţara, exceptând estul Munteniei şi Dobrogea (31–34), precum în România, cu excepţia Olteniei, Munteniei, sudul Moldovei şi Dobrogea (54) (55), fie în întregul arcul carpatic, dar şi la câmpie în Transilvania şi Banat (3), ca şi în Carpaţi, dar şi în Transilvania (49). Este figurat de asemenea pentru Carpaţi, fără extremul nord-vestic, dar şi la câmpie în Oltenia şi Muntenia (14), fie redat numai pentru nordul Carpaţilor Orientali, lipsind în restul muntos, dar prezent la câmpie în Oltenia şi Banat (22) (23)².

Parus montanus (piţigoi de munte), specie de tip siberian (D. Radu, 36), larg răspândită ca pasare sedentară în tot lanţul carpatic, în pădurile de conifere şi de amestec (etajul Tetraonidelor), având o densitate mai mare în subetajul Gotcanului (D. Radu, 37).

Apare ca fiind răspândit în întreaga ţară, inclusiv câmpia, cu excepţia unei porţiuni vestice şi a Dobrogei (30) (32–34), ori în toată ţara, inclusiv ținuturile de câmpie (31), fie în întreaga ţară, inclusiv câmpia, exceptând sud-estul Munteniei şi Dobrogea (54) (55) sau lipsind în Carpaţii Orientali şi în estul Carpaţilor Meridionali, iar în restul ţării fiind răspândit şi la câmpie (2), precum ca lipsind în sudul Carpaţilor Orientali, Carpaţii de Curbură şi estul Carpaţilor Meridionali, iar în Oltenia şi vestul Munteniei ca fiind prezent şi la câmpie (22) (23). Este redat ca prezent în Carpaţi, dar şi la câmpie în Oltenia şi Muntenia (49) sau în Carpaţi, dar şi în ținuturile joase din Transilvania şi în vestul ţării (3).

Parus ater (piţigoi de brădet), pasare sedentară răspândită în tot lanţul carpatic în etajul Tetraonidelor (37), ajungând însă şi în jnepenișuri şi rar în pădurile montane de foioase, iarna coborând spre ținuturile joase împădurite de la şes.

Figurează ca răspândit în întreaga ţară, inclusiv la câmpie, cu excepţia extremitării estice al Munteniei şi Dobrogea (54) (55), în toată ţara şi în câmpie, exceptie făcând o porţiune vestică şi una sud-estică a României (30–34), fie ca existând în Carpaţi, dar şi în spaţiul transilvănean, iar în nordul Moldovei, în Oltenia şi în jumătatea vestică a Munteniei prezent şi la câmpie (50) ori ca prezent în toată

²Este de neexplicat cum această specie, ca şi altele după cum vom vedea, precum *Parus montanus*, *Regulus regulus*, *Regulus ignicapillus*, specii tipice montane, unele relicte glaciare, clasificate în etajul Tetraonidelor (D. Radu, 1967 a), deci cu o distribuţie pe verticală precisă şi foarte stabilă, au putut fi atât de divers şi incorect redat ca răspândire într-un ținut geografic cu totul caracteristic din punct de vedere ipsografic în primul rând, ca cel al teritoriului României.

ţara, inclusiv ținuturile de câmpie, exceptând Dobrogea (3). Apare, de asemenea, redat ca fiind răspândit în toată România, inclusiv zonele de câmpie (14) sau în toată ţara inclusiv zonele joase de câmpie, cu excepţia estului Munteniei, sudul Moldovei şi Dobrogea (22), (23) ori în toată ţara, inclusiv ținuturile joase, exceptând Dobrogea (28).

Parus palustris (piţigoi sur), specie sedentară, larg răspândită în ţară trăind în pădurile luminoase şi în crângurile din ținuturile joase, în general umede, dar urcând şi pe văile râurilor corespunzătoare pădurilor de amestec, până în porţiunea lor medie. Semnalarea lui la altitudini mai mari se datorează, de regulă, confuziei cu *Parus montanus*.

Apare ca fiind răspândit în toată ţara, inclusiv Carpaţii, cu excepţia Dobrogei (4) (14) (30–34) (49), ori în toată ţara fără nord-estul Dobrogei (54) (55), fie în toată ţara, inclusiv Munţii Carpaţi (3) (28), precum în România, cu excepţia extremitării sudice al Moldovei, estul Munteniei şi Dobrogea (22) (23).

Parus lugubris (piţigoi de livadă), specie de tip mediteranean (D. Radu, 36), răspândită ca pasare sedentară mai ales în ținuturile împădurite de la altitudinile medii şi joase, îndeosebi ale jumătăţii sudice a ţării (Subcarpaţii Olteniei, Munteniei, sudul Moldovei) în Banat şi Dobrogea, cât şi în Transilvania. În mod excepţional Korodi (18) îl citează în Munţii Bihorului până la 1 300 m altitudine.

Nu figurează a exista în România (7) sau ca posibil doar în extremitatea sud-vestică a teritoriului românesc (Cazane) şi extremitatea sud-estică a Dobrogei (Canaralele Dobrogei (22) (23) (54) (55), ori prezent doar în sudul Dobrogei (3), fie răspândit în întreaga ţară, lipsind doar în nord-estul Dobrogei (14).

Parus caeruleus (piţigoi albastru), specie sedentară, larg răspândită în ţară în zonele împădurite începând din ținuturile joase cu bălti şi lunci, urcând şi pe văile râurilor de munte până-n zona pădurilor de conifere ale Carpaţilor. I. Kohl (17) îl găseşte în Munţii Călimani până la 1 000 m altitudine; D. Munteanu (27) în Munţii Bihorului la 1 200 m altitudine; I. Korodi (18) în Munţii Apuseni (Vlădeasa) până la 1 400 m altitudine.

Apare figurat pentru întreaga ţară, inclusiv Carpaţii (2) (3) (4) (14) (22) (23) (28), (30–34), (54), (55).

Remiz pendulinus (piţigoi pungar) este o specie sedentar-migratoare de tip mongol (36) răspândită în ținuturile joase ale întregii ţări, mai frecvent în jumătatea ei sudică, în teritorii bogate în păduri de sălcii din vecinătatea marilor ţintinderi de ape săratătoare, îndeosebi în Delta Dunării, dar şi pe cursul luncilor largi ale râurilor cu malurile mărginite de păduri de sălcii.

Este redat ca fiind răspândit în întreaga ţară, inclusiv Munţii Carpaţi (2) (3) (13) (14) (22) (23), (30), (31)³.

Aegithalos caudatus (piţigoi codat) este o pasare sedentară, relativ rară în indivizi, având o largă răspândire în România în zonele împădurite începând din Delta Dunării şi până în zona pădurilor de conifere din Carpaţi, în etajul Tetraonidelor, mai frecvent însă în ținuturile joase.

³Eroarea este rectificată parţial în ediţiile următoare, unde răspândirea speciei în Carpaţi nu mai apare, deşi ea nu mai este figurată nici pentru Transilvania şi vestul ţării (32–34).

Nu apare figurat în sud-estul României (estul Olteniei, Muntenia și Dobrogea, inclusiv Delta Dunării) (7).

Regulus regulus (aușel cu cap galben) cuibărește numai în Carpați în pădurile de conifere și amestec ca pasare sedentară, clasificată în etajul Tetraonidelor (37), iarna coborând uneori în văi mai adăpostite sau chiar în ținuturile împădurite mai joase.

Apare redat ca răspândire doar în vestul României (2) ori în Carpați, dar și în ținuturile joase din Oltenia, parțial în Transilvania și estul Moldovei (30) sau în vestul Câmpiei Române (31), fie în Carpați, dar și la câmpie în Muntenia (48), precum a nu exista deloc în România (13) (14) (22) (23) (32–34).

Regulus ignicapillus (aușel cu cap roșietic), specie clocitoare numai în pădurile de conifere și de amestec din Carpați, clasificată în etajul Tetraonidelor (37), iarna majoritatea populațiilor speciei coborând în văi cât și în ținuturile joase de câmpie ale țării.

Apare redat ca răspândire în întreg teritoriul românesc, inclusiv regiunile de câmpie, cu excepția extremității nord-vestice a țării (31) ori pe toată suprafața țării (30) (32–34), fie prezent și în Transilvania și la câmpie în Oltenia și vestul Munteniei (48), dar și ca pasare de vară în portiunea nord-vestică a țării și ca sedentară în rest (Oltenia, Muntenia, Moldova), fără Dobrogea (3), precum ca pasare de vară pentru țară, inclusiv câmpia, fără Dobrogea (14). De asemenea ca fiind răspândit în Carpați, dar și în Transilvania, iar în nordul Moldovei, Oltenia și vestul Munteniei prezent și la câmpie (22) (23), cât și ca pasare de vară în toată țara, inclusiv câmpia, cu excepția Dobrogei (28) sau în Carpați, dar și la câmpie în Oltenia și vestul Moldovei (4).

Familia Paradoxornithidae

Panurus biarmicus (pițigoi de stuf), specie sedentară de tip mongol (36), tipică ținuturilor cu stufării întinse de pe tot cuprinsul României, în general la altitudini joase, mai frecventă în jumătatea sudică și sud-estică. Mai rar în câmpia Transilvaniei (6).

Apare figurat numai pentru estul Moldovei, Dobrogea, Banat, vestul Olteniei, estul Munteniei (3) (30) (31), fie numai în Dobrogea și în vestul țării (54) (55) sau numai în nordul Dobrogei și în sud-vestul României (Banat, vestul Olteniei) (11) (32–34), ori numai în Delta Dunării și în vestul țării (2) (4), ca și numai pentru extremul vestic al țării (vestul Banatului) și eventual în nordul Deltei Dunării (14), dar și numai în Delta Dunării (28), sau neajungând deloc pe teritoriul României (22) (23).

Familia Sittidae

Tichodroma muraria (fluturaș de stâncă), pasare sedentară aparținând tipului faunistic tibetan (36) ce trăiește numai în lanțul carpatic în ținuturile stâncioase abrupte ajungând la peste 2000 m altitudine, făcând parte din etajul Brumăriței (37). Toamna coboară în văile adăpostite, unele exemplare ajungând la șes în zonele răpoase și chiar în orașe cățărându-se pe zidurile clădirilor înalte.

Nu apare figurată pentru Carpații Meridionali și Occidentali (2) (22) (23), ori apare în Carpați, dar și în Transilvania (28) (30) (31), fie ca răspândit în Carpații Orientali și Meridionali, fără Carpații Occidentali (3) (14) (32–34) (54) (55).

Familia Certhiidae

*Certhia brachydactyla*⁴ (cojoaică cu degete scurte), specie sedentară răspândită în ținuturile joase și deluroase împădurite îndeosebi în vestul țării, Banat, jumătatea sudică a României și Dobrogea inclusiv Delta Dunării (D. Radu, 39 40 42 43 44 45 46 47). D. Munteanu (26) și D. Linția (21) o citează pentru Banat. R. Dombrowski-D. Linția (10) pentru Dobrogea, iar S. Pașcovschi (29) pentru Banat și nordul Dobrogei, inclusiv Delta Dunării. Altitudinal urcă mai puțin decât *Certhia familiaris* (37). Apare redată ca fiind răspândită în toată România, inclusiv Carpații (7) (14) (30) (31) (54) (55), fie în țară fără Moldova și jumătatea estică a Dobrogei (51) ori numai în sudul și vestul țării, exclusiv Carpații (32–34), sau în țară fără sudul Moldovei și Carpații de Curbură (3), precum în România fără Moldova și jumătatea nordică a Carpaților Orientali (22) (23), fie răspândită numai în Dobrogea și Banat (28) sau numai în sudul și vestul României și în Dobrogea (4).

Familia Emberizidae

*Emberiza schoeniclus*⁵ (presură de stuf), larg răspândită în țară prin subspecia *E. schoeniclus intermedia*, îndeosebi în ținuturile joase cu stufării întinse din vecinătatea apelor, mai rar în zone deluroase ori pe văile inferioare largi ale râurilor, prezentă și iarna mai ales prin forma tipică *E. schoeniclus schoeniclus*. Este mai frecventă în jumătatea sudică și sud-estică a țării (46).

Figurează răspândită în întreaga țară, inclusiv Carpații (3) (13) (14) (22) (23) (28) (30–34) (54) (55).

Emberiza cirlus (presură bărbosă), specie de tip mediteranean (36), a fost descoperită în anul 1913, în Defileul Dunării (10), în prezent fiind răspândită în ținuturile sud-vestice ale țării, Podișul Mehedinți și Subcarpații Olteniei și Munteniei, unde ea s-a extins spre est în Cheile Sohodolului (35) și apoi în Cheile Oltețului și în nord-vestul Munteniei pe valea Argeșului (41), specia fiind într-un continuu proces de expansiune lentă spre est.

Este redată doar ca ajungând până în sudul Dunării, în zona Cazanelor (2) (7) (28) (51) sau nu figurează a ajunge pe teritoriul României (3) (54) (55), fie ca răspândită în sud-estul țării, cât și în sudul Dobrogei (4).

*Emberiza calandra*⁶ (presură sură), specie sedentară cuibăind îndeosebi în ținuturile joase și deluroase descoperite, bine înierbate, mai rar urcând și pe văile largi, luminoase, ale râurilor până în portiunea lor medie.

Este figurată pentru întreaga țară, inclusiv Carpații (4) (14) (22) (23) (30) (31)⁷.

⁴Aproape în toate lucrările românești sau străine ce privesc teritoriul României, apare consecvent citată ca prezentă în liste faunistice specia *Certhia familiaris* chiar în locurile unde ea coexistă cu *Certhia brachydactyla*. Faptul se datorează imposibilității deosebirii certe în natură a celor două specii după penaj, deși după glas, pentru cei ce le cunosc, diferențele sunt evidente. De asemenea pigmentația ouălor este vizibil mai pronunțată *Certhia brachydactyla* datorită prezenței petelor, comparativ cu *Certhia familiaris* la care ouăle sunt doar punctate.

⁵Arealul răspândirii acestei specii este inversat cu al speciei *Emberiza cia*, deși și în acest caz *Emberiza schoeniclus* figurează a fi răspândită aproape în tot arcul carpatic (2).

⁶Arealul acestei specii, deși corect redat, apare inversat cu cel al speciei *Emberiza hortulana* (2).

⁷Eroarea este rectificată în edițiile următoare în sensul nefigurării ei în Carpați (32–34).

*Emberiza cia*⁸ (presură de munte), specie parțial migratoare, aparținând tipului faunistic mediteranean (36), răspândită în ținuturile muntoase și grohotișuri din lanțul carpatic, prezentă sporadic și în Munții Măcinului (46). Iarna coboară în văile adăpostite sau părăsește țara. În Carpații Orientali (Bazinul Bistriței) a fost identificată și în timpul iernii (15) și tot iarna a fost observată și în Carpații Occidentali (20).

Specia este figurată numai pentru sudul României (sudul Olteniei și al Munteniei) și Dobrogea (7) sau este figurată numai în sud-vestul Carpaților (4), (30) ori numai pentru Dobrogea și ținuturile sud-estice ale țării (Oltenia, Muntenia) (31), fie răspândită doar în sudul Olteniei și al Munteniei (32–34), precum ca inexistentă în România (22) (23).

Emberiza citrinella (presură galbenă), pasare sedentară, parțial migratoare dar și oaspete de iarnă pentru România, având o largă răspândire în pădurile cu luminișuri, atât în ținuturile joase, dar și la altitudini mai mari pe văile râurilor montane.

Nu apare a cuibări decât în jumătatea estică a Moldovei (7) sau este figurată ca pasare sedentară în toată țara, inclusiv Carpații (4).

*Emberiza hortulana*⁹ (presură de grădină), pasare de vară întâlnită în ținuturile joase și deluroase, cu pâlcuri de pădure rare, luminoase, precum și în arborii izolați de pe marginile soselelor.

Figurează răspândită în toată țara, inclusiv Carpații (2) (3) (4) (13) (14) (22) (23) (25) (28), (30–34).

Emberiza melanocephala (presură cu cap negru) este semnalată sporadic în România (Dobrogea) ca pasare de vară de tip mediteranean (36), pătrunsă din sud, menționată încă din anul 1909 la Murfatlar-Constanța (R. Dombrowski, 9), apoi în sudul Dobrogei (P. Geroudet, 12), în Delta Dunării la 26 iunie 1967, ca cel mai nordic punct de semnalare din țară (38), precum și în pădurile Babadagului (16).

Nu figurează a ajunge în România (7) (13) (14) (22) (23) (30) (31)¹⁰ (52) (54) (55), sau este redată doar pentru extremul sudic al Dobrogei (3).

Calcarius lapponicus (presură de tundră), specie de origine arctică (48), apare la noi rar, neregulat, în perioadele reci ale anului, îndeosebi în regiunile nordice ale României (nordul Moldovei și al Transilvaniei), sosind din ținuturile eurasiatice unde cuibărește. A fost descoperit pentru prima dată la noi în Moldova în anul 1968 (24)¹¹. Prezența speciei ca pasare de iarnă pentru România este desigur mult mai veche, dar ea a trecut neobservată datorită penajului nesemnificativ al speciei din acest anotimp.

⁸Arealul acestei specii, deși corect redat, este inversat cu al speciei *Emberiza schoeniclus* (2).

⁹Arealul acestei specii, figurată și ea în Carpați, apare inversat cu al speciei *Emberiza calandra* (2).

¹⁰Eroarea este rectificată în edițiile următoare (32–34).

¹¹O revendicare privind prioritarea descoperirii acestei specii pentru România apare din partea lui I. Cătuneanu (1980) după 49 (!) de ani de la pretinsa-i descoperire, și la 11 ani de la publicarea ei de către C. Mândru (1969), revendicare ridicolă prin tardivitatea ei, submediocă prin infantilismul redactării și neștiințifică prin lipsa exemplarului doveditor, element esențial în astfel de cazuri.

Revendicarea apare cu atât mai neavenită, cu cât același Cătuneanu recunoștea cu numai 4 și respectiv 2 ani în urmă (Cătuneanu, 1976, 1978) că prioritarea aparținea lui C. Mândru.

Nu este menționat a ajunge în migrațiile de iarnă până în România în lucrările apărute posterior descoperirii sale în acest teritoriu (3) (4) (14) (28) (32–34).

Plectrophenax nivalis (presură de iarnă), pasare de origine arctică (36), apare fără regularitate uneori în cărduri sub formă de invazi, fie prin exemplare izolate, îndeosebi în zonele descoperite din sudul și sud-estul țării, dar rar și în ținuturile de mai mare altitudine, sosind din tundra eurasiană unde cuibărește.

Apare a atinge România doar în extremul ei nord-estic (2) (3), (30–34) (53), sau a ajunge iarna numai până în Delta Dunării (28), fie că nu ar atinge deloc România în perioada de iarnă (14).

BIBLIOGRAFIE

1. BÉREŞ I., Contribuții la cunoșterea ornitofaunei depresiunii Maramureșului, Maramăția, IV, Muz. jud. Maramureș, p. 391–426, Baia Mare, 1978.
2. BRUUN B., Birds of Europe, Golden Press, New-York, 1967.
3. BRUUN B., SINGER A., KÖNIG G., Der Kosmos-Vogelführer, Franckh'sche Verlangshandlung, Stuttgart, 1971.
4. BRUUN B., DELIN H., SVENSSON L., Birds of Britain and Europe, Newness-Country Life Books, 1986.
5. CĂTUNEAU I., Contribution concernant la présence du Bruant lapon (*Calcarius lapponicus*) en Roumanie, Trav. Mus. Hirst. Nat. "Gr. Antipa", 21: 249–250, 1980.
6. CIOCHIA V., Păsările clochitoare din România, Edit. Științifică, București, 1992.
7. DEMENTIEV G.P., GLADKOV N.A., SUDILOVSKAIA A.M., SPANGENBERG E.P., BAME L.B., VOICIANETKII I.B., VOINSTRAISKII M.A., GORCIAKOVSKAIA N.N., KORELOV M.N., RUSTAMOV A., K. Ptijă Sovetskogo Soiuza, vol. V, Sovetskaja Nauka, Moskva, 1954.
8. DEMENTIEV G.P., GLADKOV N.A., BLAGOSKLONOV K.N., VOLCIANETKII I.B., MAKLENBURTEV P.N., PTUSENKO E.S., RUSTAMOV A.K., SPANGENBERG E.P., SUDILOVSKAIA A.M., STEGMAN B.K., Ptijă Sovetskogo Soiuza, vol. VI, Sovetskaja Nauka, Moskva, 1954.
9. DOMBROWSKI R., Ornis Romaniae. Bucarest, 1912.
10. DOMBROWSKI R., LINTIA D., Păsările României (Ornis Romaniae), Prelucrare și completare, vol. I, Fundația Regală pentru literatură și artă, București, 1946.
11. GEISTER I., Rare species in 1979, Acrocephalus, vol. I, nr. 1, febr. Slovenia, 1980.
12. GEROUDET P., Progression de Passer hispaniolensis et Emberiza melanocephala en Roumanie, Alauda, An 35. 3: 234, 1967.
13. GRZIMEK B., Grzimek's Tierleben, Deutscher Taschenbuch-Verlag, Berlin, 1980.
14. HEINZEL N., FITTER R., PARSLAW J., Pareys Vögelbuch. Alle Vögel Europas, Nord Afrikas und des Mittleren Ostens, Paul Parey, Hamburg-Berlin, 1972.
15. IONESCU V., MIRON I., MUNTEANU D., SIMIONESCU V., Vertebrate din bazinul montan al Bistriței, Lucr. Stăt. cerc. biol., geol. și geogr., „Stejarul” 1: 375–437, 1968.
16. KISS J.B., Black-headed Bunting in the mountains of Dobrudza, Aquila, 75: 304, 1968.
17. KOHL ST., Contribuții la cunoșterea ornitofaunei din Munții Călimani, Analele Banatului, I. St. Naturii, 59–79, Timișoara, 1983.
18. KORODI G.I., Contribution of the knowledge of the Ornis of Bihor-Mountains, Aquila, An. LXV, Budapest, 1958.
19. KORODI I., Observații ornitologice asupra păsărilor din Munții Apuseni, Nymphaea, II, Muz. Tării Crișurilor, Oradea, 1974.
20. KOVÁTS L., *Emberiza c. cia* L. (presura de stâncă) în jud. Bihor, Rev. Muzeelor. 1: 49–54, București, 1970.
21. LINTIA D., Catalogul sistematic al faunei ornitologice române. Ed. Muz. Ornitol., Timișoara, 1944.
22. MAKATSCH W., Die Eier der Vögel Europas. vol. II, Neumann-Verlag, Berlin, 1976.
23. MAKATSCH W., Wir bestimmen die Vögel Europas, Neumann-Verlag, Radebeul, 1989.
24. MÂNDRU C., Un *Calcarius 1. lapponicus* în fauna României, Vânat. și pesc. sport., An. 21, 4: 28, 1969.

25. MOREAU R.E., The Palaearctic-African Bird Migration Systems, Part I, Ac.Press, London and New-York, 1972.
26. MUNTEANU D., Considerații sistematice asupra cojoaicelor (*Certhia familiaris* L.) din România, Rev. Muzeelor, vol. VI, 2, 1969.
27. MUNTEANU D., Contribuții la cunoașterea avifaunei din Munții Bihorului, Nymphaea. X: 283-296, Oradea, 1982.
28. NICOLAI J., SINGER D., WOTHE K., Grosser Naturführer. Vögel, Gräfe und Unzer, München, 1984.
29. PASCOVSCHI S., Unele aspecte biogeografice ale pădurilor nord-dobrogene, Peuce, III, Stud. și Comunic. de St. Nat., Muz. Deltai Dunării, 409-418, Tulcea, 1973.
30. PETERSON R., MOUNTFORT G., HOLLOM P.A.D., Guide des oiseaux d'Europe, Delachaux et Niestle S.A. Neuchâtel, 1957.
31. PETERSON R., MOUNTFORT G., HOLLOM P.A.D., Die Vögel Europas, Paul Parey, Hamburg-Berlin, 1961.
32. PETERSON R., MOUNTFORT G., HOLLOM P.A.D., A Field Guide to the birds of Britain and Europe, Collins, London, 1972.
33. PETERSON R., MOUNTFORT G., HOLLOM P.A.D., A Field Guide to the birds of Britain and Europe, Collins, London, 1974.
34. PETERSON R., MOUNTFORT G., HOLLOM P.A.D., A Field Guide to the birds of Britain and Europe, Collins, London, 1979.
35. POPESCU M., Presura bănățeană (*Emberiza cirlus* L.) în Oltenia, Rev. Muz., vol. VI, 1: 75-76, 1969.
36. RADU DIMITRIE, Originea geografică și dinamica fenologică a păsărilor în R.P.R., în Probleme de biologie, Edit. Academiei R.P.R. 513-574, București, 1962.
37. RADU DIMITRIE, Păsările din Carpați, Edit. Academiei, 178, București, 1967 a.
38. RADU DIMITRIE, Observații de vară în Delta Dunării, Vânat. și pesc. sport, 10: 19, București, 1967 b.
39. RADU DIMITRIE, Observații în Delta Dunării, Vânat. și pesc. Sport, 9: 28-29, București, 1968.
40. RADU DIMITRIE, Păsările din Delta Dunării (Rezumatul tezei de doctorat), Centrul de multiplicare al Univ. București, 74, 1971.
41. RADU DIMITRIE, Presura bărboasă și codobatura galbenă cu cap negru își extind arealul, Vânat. și pesc. Sport, 12: 26, București, 1972.
42. RADU DIMITRIE, Etajele ornitologice ale României, Studii și Comunicări, vol. 6, Muz. de St. Naturii Bacău, 287-324, 1973.
43. RADU DIMITRIE, L'avifaune nidificatrice de Delta du Danube, Aves, vol. II: 73-118, Bruxelles, 1974.
44. RADU DIMITRIE, Păsările lumii, Edit. Albatros, 272 p., 40 pl. color, București, 1977.
45. RADU DIMITRIE, Păsările din Delta Dunării, Edit. Academiei, p. 195, 8 pl. color, București, 1979.
46. RADU DIMITRIE, Mic atlas ornitologic, p. 311, 40 pl. color, Edit. Albatros, București, 1983.
47. RADU DIMITRIE, Păsările în peisajele României, 123 pl. color, p. 404, Edit. Sport-Turism București, 1984.
48. STEGMANN B., Fauna SSSR, Ptif, Izd. Akad. Nauk SSSR, vol. I, nr. 2, Moskva, 1983.
49. STEINBACHER J., WOLTERS H.E., Vögel in Käfig und Voliere, Achte Lieferung, Verlag Hans Linberg, Aachen, 1965 a.
50. STEINBACHER J., WOLTERS H.E., Vögel in Käfig und Voliere, Neunte Lieferung, Verlag Hans Linberg, Aachen, 1965 b.
51. STEINBACHER J., WOLTERS H.E., Vögel in Käfig und Voliere, Elfte Lieferung, Verlag Hans Linberg, Aachen, 1968.
52. STRESSEMAN E., PÖRTENKO L., Atlas der Verbreitung Palaearktischer Vögel, Akademie-Verlag, Berlin, 1960.
53. STUMBERGER B., Rare species, Acrocephalus, vol. I, nr. 2, Apr., Slovenia, 1980.
54. VOOUS K.H., Atlas of European Birds, Nelson, 1960.
55. VOOUS K.H., Die Vogelwelt Europas und ihre Verbreitung, Paul Parey, Hamburg-Berlin, 1962.

Primit în redacție
la 12 decembrie 1995

NOTĂ CĂTRE AUTORI

Revista „Studii și cercetări de biologie, Seria biologie animală” publică articole originale de nivel științific superior din toate domeniile biologiei animale: morfologie, taxonomie, fiziologie, genetică, ecologie etc. Sumarele revistei sunt completeate cu alte rubrici ca: 1. Viață științifică, ce cuprinde unele manifestări științifice din domeniul biologiei, ca simpozioane, lucrările unor consfătuiri etc. 2. Recenzii, care cuprind prezentări asupra unor cărți de specialitate apărute în țară și peste hotare.

Autorii sunt rugați să întreținăze articolele, notele și recenziile dactilografiate la două rânduri, în două exemplare.

Bibliografia, tabelele și explicația figurilor vor fi dactilografiate pe pagini separate, iar diagramele vor fi executate în tuș pe hârtie de calc. Figurile din planșe vor fi numerotate în continuarea celor din text. Se va evita repetarea același date în text, tabele și grafice. Citarea bibliografiei în text se va face prin numere. În bibliografie se vor cita, alfabetic și cronologic, numele și inițiala autorilor (cu majuscule), titlurile cărților (subliniate) sau al revistelor (prescurtate conform uzanțelor internaționale), volumul urmat, în cazul în care este menționat, de număr (în paranteză), despărțit prin : de pagină și an. Lucrările vor fi însoțite de o prezentare în limba engleză de maximum 10 rânduri. Textul lucrărilor, inclusiv bibliografia, explicația figurilor și tabelele nu trebuie să depășească 7 pagini dactilografiate.

Responsabilitatea asupra conținutului articolelor revine în exclusivitate autorilor.